T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ SOYA UNU İÇEREN BİSKÜVİ ÜRETİMİNDE FARKLI SICAKLIK UYGULAMALARININ GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ ORGANİZMA MİKTARINA ETKİSİ

Özge HÜYÜK

BURDUR, 2019

T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ SOYA UNU İÇEREN BİSKÜVİ ÜRETİMİNDE FARKLI SICAKLIK UYGULAMALARININ GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ ORGANİZMA MİKTARINA ETKİSİ

Özge HÜYÜK

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Melike BARAN EKİNCİ

II. Danışman: Doç. Dr. Hülya GÜL

BURDUR, 2019

YÜKSEK LİSANS JÜRİ ONAY FORMU

Özge HÜYÜK tarafından **Dr. Öğr. Üyesi Melike BARAN EKİNCİ ve Doç. Dr. Hülya GÜL** yönetiminde hazırlanan **"Genetiği Değiştirilmiş Soya Unu İçeren Bisküvi Üretiminde Farklı Sıcaklık Uygulamalarının Genetiği Değiştirilmiş Organizma Miktarına Etkisi"** başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 31/05/2019

Dr. Öğr. Üyesi Melike BARAN EKİNCİ (Danışman)
Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Müh.-Mim. Fak., Gıda Müh. Bölümü.............

Doç. Dr. Hülya GÜL (II. Danışma)
Süleyman Demirel Üniversitesi Mühendislik Fak., Gıda Müh. Bölümü.............

Prof. Dr. Bedia ŞİMŞEK (Jüri Üyesi)
Süleyman Demirel Üniversitesi Mühendislik Fak., Gıda Müh. Bölümü.............

Doç. Dr. Seyhan ULUSOY (Jüri Üyesi)
Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fak., Biyoloji Bölümü.............

Dr. Öğr. Üyesi Arzu KART (Jüri Üyesi)
Süleyman Demirel Üniversitesi Mühendislik Fak., Gıda Müh. Bölümü.............

ONAY

Bu Tez, Enstitü Yönetim Kurulu'nun ____________ Tarih ve ________ Sayılı Kararı ile Kabul Edilmiştir.

(İmza)

....
Doç. Dr. Ayşe Gül MUTLU GÜLMEMİŞ

Müdür
Fen Bilimleri Enstitüsü

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum **"Değiştirilmiş Soya Unu İçeren Bisküvi Üretiminde Farklı Sıcaklık Uygulamalarının Genetiği Değiştirilmiş Organizma Miktarına Etkisi"** başlıklı bu tezin;

- Kendi çalışmam olduğunu,
- Sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi,
- Bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi,
- Kullandığım verilerde değişiklik yapmadığımı,
- Tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı,
- Bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı,

bildirir, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

31 /05/ 2019

Özge HÜYÜK

TEŞEKKÜR

Bu araştırma için beni yönlendiren, karşılaştığım zorlukları bilgi ve tecrübesi ile aşmamda yardımcı olan değerli Danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Melike BARAN EKİNCİ ve deneylerimi yapmam için laboratuvarını bana açan, araştırmalarımda hiçbir yardımı esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Hülya GÜL'e teşekkür ederim.

DNA izolasyonu ve PCR analizlerinin yapımında yardımlarını esirgemeyen Öğr. Gör. Orhan YAVUZ ve Biyolog Melike SARI'ya, bisküvi üretimindeki yardımlarından dolayı değerli meslektaşım Şeyma ULUTÜRK'e, 0490-YL-17 No'lu proje ile tezimi maddi olarak destekleyen Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Eğitim hayatımın her aşamasında beni her anlamda destekleyen, bulunduğum konumda olmamı sağlayan, beni teşvik eden annem Dilek ALPASLAN'a ve ablam Özlem ANAÇ'a sevgilerimi sunarım.

Tez yazım aşamamda kendisinin bulunmuş olduğu zor koşullara rağmen benden sevgisini ve desteğini hiç esirgemeyen, motivasyonumu yüksek tutmamı sağlayan Hüseyin MERTOĞLU'na sonsuz sevgilerimle…

Mayıs, 2019 **Özge HÜYÜK**

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ŞEKİL DİZİNİ

ÇİZELGE DİZİNİ

Sayfa

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AB	: Avrupa Birliği
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
BİLTEKMER	: Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi
BM	: Birleşmiş Milletler
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
dNTP	: Deoksiribonukleozidtrifosfat
GD	: Genetiği Değiştirilmiş Ürünler
GDO	: Genetiği Değiştirilmiş Organizma
GMO	: Genetiği Modifiye Organizma
ISAAA	:International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications
MAKÜ	: Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PEG	: Polietilen Glikol
rDNA	: Rekombinant DNA
TBMM	: Türkiye Büyük Millet Meclisi
US FDA	: United State Food and Drug Administration
yy	: Yüzyıl
G	: Kütle Çekim Kuvveti
gr	: Gram
mg	: Miligram
mm	: Milimetre
rpm	: Revolutions Per Minute
sn	: Saniye
µl	: Mikrolitre
°C	: Santigrat Derece

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Genetiği Değiştirilmiş Soya Unu İçeren Bisküvi Üretiminde Farklı Sıcaklık Uygulamalarının Genetiği Değiştirilmiş Organizma Miktarına Etkisi

Özge HÜYÜK

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Melike BARAN EKİNCİ
II. Danışman: Doç. Dr. Hülya GÜL

Mayıs, 2019

Bu tez çalışmasında farklı oranlarda GDO (Genetiği Değiştirilmiş Organizma) içeren bisküvi hamuru hazırlanarak 3 farklı sıcaklıkta pişirilmiştir. Pişirme derecesinin GDO miktarına etkisi relatif-kantitasyon metodu uygulanarak incelenmiştir. Bu amaçla hamur örnekleri, farklı oranlarda (%0, %0.1, %0.5, %0.9, %2, %50 ve %100) Roundup-ready soya unu ile buğday ununun yer değiştirmesi prensibine uygun olarak hazırlanmıştır. Bisküviler 190, 200 ve 210°C'de eşit sürede pişirilmişlerdir. Kantitatif GDO analizleri Real-time PCR ile yapılmıştır. GDO analizlerinin sonuçları istatiksel olarak ANOVA metoduna göre karşılaştırılmıştır. Bisküvilere GDO analizleri dışında en-boy, renk ve ağırlık analizleri yapılmıştır ve sonuçları istatiksel olarak karşılaştırılmıştır.

Buna göre pişirme işleminin DNA kaybına sebep olduğu ve GDO miktarını düşürdüğü ancak pişirme sıcaklıkları arasında belirli bir korelasyon olmadığı görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: bisküvi, RR Soya, GDO, Real-time PCR

Hazırlanan bu Yüksek Lisans tezi Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 0490-YL-17 proje numarası ile desteklenmiştir.

SUMMARY

M. Sc. Thesis

The Effects of Different Baking Temperatures on the Quantity of Genetically Modified Organisms in the Cookies Containing Genetically Modified Soy Flour

Özge HÜYÜK

Burdur Mehmet Akif Ersoy University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Assist. Prof. Melike BARAN EKİNCİ
Co-Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Hülya GÜL

May, 2019

In this study, cookie doughs were prepared with different ratios of GMO (genetically modified organism) and cooked under three different temperatures. The effect of cooking degree on GMO amount was investigated by relative quantification method. For this purpose, the dough samples were prepared by adding Roundup-ready soy flour in different ratios (%0.1, %0.5, %0.9, %2, %50, %100) to wheat flour. The cookies were cooked for equal periods under different baking temperatures (190, 200 and 210°C). The quantitative GMO analysis of the samples were examined by Real-time PCR. The results were compared statistically according to the ANOVA method. In addition to GMO analyzes, the length, color and weight analyzes were performed on the biscuits and the results were compared statistically.

It was observed that the cooking process caused DNA loss and decreased the amount of GMO but there no correlation was observed between the cooking temperatures.

Keywords: cookie, RR Soybean, GMO, Real-time PCR

The present M.Sc. Thesis was supported by Coordinatorship of Scientific Research Projects of Burdur Mehmet Akif Ersoy University Under the Project number of 490-YL-17

1. GİRİŞ

İnsanoğlunun en temel ihtiyaçlarından biri beslenmedir. Geçmişten günümüze kadar olan süreçte bu ihtiyacın gereksinimleri doğrultusunda bilimsel gelişmeler yaşanmıştır. Dünya üzerinde ekilebilir alan sınırlı ve artmazken tüketici topluluk her geçen gün hızlı bir şekilde artmaktadır. Tüketici topluluğun ihtiyaçlarının karşılanabilmesi için, ekilen tarım arazilerinden ve yetiştirilen hayvanlardan daha fazla verim alınabilmesi gerekmektedir. Ürün üretimini artırmak için mevcut tarım uygulamaları, geleneksel ıslah yöntemleri yetersiz kalmakta bunun yanı sıra yeni strateji olarak kullanılan bitki biyoteknolojisi, genomik, biyoinformatik, doku kültürü, gen transferleri, moleküler yetiştirme ve diagnostik uygulamaları kullanılarak bitki ıslahını amaçlanmaktadır. Bu teknoloji ile geliştirilmiş, genomunda yabancı gen taşıyan bitkilere ise genetiği değiştirilmiş organizma (GDO)'lar denmektedir (Bayraç vd., 2014).

Biyogüvenlik yasasında ise GDO'lar doğal yollarla meydana gelmesi mümkün olmayan, modern biyoteknoloji yöntemleri kullanılarak genetik materyali değiştirilmiş insan dışıdaki organizmaları ifade etmektedir. Tanımda bahsedilen modern biyoteknolojik yöntemler farklı tür ve sınıflar arasında geleneksel melezleme ve ıslah yöntemleri dışında doğal çoğalma yöntemlerini aşarak işlem görmüş rekombinant DNA'nın hücrelere veya organellere aktarılmasıdır (Anonim, 2005).

Rekombinant organizmalar farklı şekillerde isimlendirilebilmektedir. Bunlar; GMO (Genetically modified organism, Genetik olarak modifiye organizma), GDO (Genetik olarak değiştirilmiş organizma), Transgenik/Biotek/Rekombinant Organizma, LMO (Living Modified Organism)'dur (Tozzini vd., 2000; Gözükırmızı, 2002; Lipp vd., 2005; Eser ve Kılınçarslan, 2005).

Genetiği değiştirilmiş organizmaların hayatımıza girmesi bitki ve hayvan türlerinin gen değişimlerinin yapılabilmesi bir heyecan yaratmakla birlikte yarar zarar tartışmalarını da beraberinde getirmiştir. Bilim insanları genetiği değiştirilmiş organizmaların yararları ve zararlarına yönelik çalışmalar yapmaktadırlar. Bu yüzden GDO içeren gıdaların tüketimleri konusunda da Dünya üzerinde farklı uygulamalar mevcuttur. Bazı ülkelerde GDO üretimi ve tüketimi serbest ve yasal iken bazı ülkelerde hem üretimi hem tüketimi yasaktır. Türkiye'de olduğu gibi bazı ülkelerde ise kısıtlı kullanımları mevcuttur. GDO'ların tüketimleri konusunda tüketiciler de farklı görüşlere sahip olmakla birlikte

tükettikleri ürünlerde GDO mevcut mu var ise GDO oranını bilmek istemektedirler. GDO tespit etme yöntemleri tüketicilerin bu eğilimlerini karşılamak üzere her geçen gün gelişmektedir. Ayrıca Türkiye'de 5977 sayılı "Biyogüvenlik Kanunu" na göre % 0.9'un üzerinde GDO içeren ürünlerin etiketleme zorunluluğu vardır. Ancak ürün işleme derecelerinin sonuçları hangi ölçüde etkilediğine dair literatür bilgisi oldukça kısıtlıdır.

Bu çalışmada gıda işleme yöntemlerinin tespit edilen GDO miktarına etkisi olup olmadığı da araştırılmıştır. Bu amaçla buğday unu ile hazırlanan bisküvilere yer değiştirme prensibi uygulanarak %0, %0.1, %0.5, %0.9, %2, %50 ve %100 oranlarında roundup ready soya unu ile 7 çeşit hamur örneği hazırlanmıştır. Hazırlanan bisküvilerin her biri üç farklı sıcaklıkta (190, 200 ve 210 °C'de) eşit sürede pişirilmişlerdir. Bisküvi örneklerinde önce bitki spesifik geni araştırılmış ve pozitif sonuç veren örneklerde Real-time PCR ile analize devam edilmiştir. Örneklerde lektin geni araştırılarak örneklerde soya unu varlığı, 35S promotör bölgesi analiz edilerek ise genetik modifikasyonun varlığı doğrulanmıştır. Hamur örnekleri ve bisküvilerde GDO miktarı ise roundup ready soyaya uygun primer-prob çifti kullanılarak kantitatif olarak Real-time PCR ile saptanmıştır. Sonuçlar SPSS istatistik programı kullanılarak analiz edilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar

İleriki yıllar içi tahmin edilen nüfus artışının gıda talebinin karşılanması geleneksel yöntemler ile mümkün göüzkmemektedir. Bu sebeple gıdaların fiziksel, kimyasal özelliklerinin geliştirilmesinin yanı sıra sürdürülebilir üretimi ve tüketicilere arzı en önemli gündem başlıkları haline gelmiştir (Çeltek, 2002).

Genetiği değiştirilmiş gıdaların üretimi bu nokta da devreye girerek geleneksel yöntemlerle üretilen bitkilerden daha hızlı ve daha verimli ürün alınması amaçlanmaktadır.

Transgenik bitkiler elde edilmesi için yapılan çalışmalar, 1980'li yıllarda ülkeler arası bir konsorsiyum tarafından *Agrobacterium tumafaciens* bakterisinin aracılığı ile gen aktarımı teknolojisinin kullanılmaya başlanması ile adeta bir devrim yaşamıştır ve bunun neticesinde uzun raf ömrüne sahip domates de dahil olmak üzere çok sayıda GD bitki geliştirilmiştir (Bawa ve Anilakumar, 2013). Genetiği değiştirilmiş organizmalar ile ilgili ilk çalışmalara ABD'de başlamıştır ve ilk genetiği değiştirilmiş organizma olan *Escherichia coli* 1973 yılında laboratuvarda elde edilmiştir (National Human Genome Research Institute, 2015). Bunu 1983 yılında ise dünyada ilk defa genetiği değiştirilmiş tütün bitkisi elde edilmesi izlemiştir (Herrera-Estrella vd., 1983; Kenward vd., 1993). Açık alanda ilk üretimi yapılan bitki ise ABD'de "*Bacillus thuringensis*" bakterisinin genini barındıran genetiği değiştirilmiş mısırdır (Yılmaz, 2012). Ticareti yapılan genetiği değiştirilmiş ilk bitki 1994 yılında ABD pazarlarında satılmaya başlayan ve "Flavr Savr" adı verilen, uzun raf ömrüne sahip domates olmuştur. İlerleyen yıllarda genetiği değiştirilmiş bitki çeşit sayısı artarak devam etmiştir (Şen ve Altınkaynak, 2014).

2.1.1. Roundup-ready Soya

Soya bitkisinin kökeni 4 bin yıl öncesinde Uzakdoğu ülkelerine dayanmaktadır. Geçmişte ve günümüzde dünya nüfusunu besleyen en önemli bitkilerden biri olma özelliğini korumuştur. Soya bitkisinin bünyesinde %40-45 oranında protein, % 18-20 oranında yağ bulunmaktadır. Bu sebeple gıda sektöründe oldukça önemli bir bitkidir. Dünya üzerinde en çok üretilen yağ soya yağı, yem sanayisinde ise en fazla kullanılan hammadde soya küspesi olmuştur.

Batılı ülkeler 120-130 yıl kadar önce soya ile tanışmıştır. Soya sanayileri kurarak, soya üretimine ve kullanım alanlarının geliştirilmesine önemli katkılar yapmışlardır. Günümüzde Dünya soya üretimi yaklaşık olarak 180 milyon tondur. Dünya soya üretimindeki en büyük payı %50 oranındaki üretimiyle A.B.D almakta, onu Brezilya, Arjantin ve Çin izlemektedir (Nazlıcan, 2019).

Soya bitkisi gelişimin ilk evresinde yabancı otlardan fazlaca etkilenmektedir (Nazlıcan, 2019). Tarımsal herbisitler tek yıllık ve çok yıllık çimlere, geniş yapraklı yabani otların çoğunun bertarafı için etkilidir (Franz vd., 1997). Mosanto şirketi tarımsal herbisitlerde aktif madde olan glifosata tolerans sağlayan Roundup Ready Soya bitkisini geliştirmişlerdir. Toprak bakterisi olan *Agrobacterium sp.*'den elde edilen glifosat toleransı sağlayan CP4 proteini bitki genomuna aktarılmıştır. Böylelikle kendi bünyesinde CP4 EPSPS proteini üreten Roundup Ready Soya bitkisi herbisitlere dayanıklı hale getirilmiştir (Anonim, 2002a).

2.2. Bitkilerde Gen Transfer Yöntemleri

Amerikalı bilim insanları 1972 yılında ligaz enziminden yararlanarak kimerik DNA oluşturabilmeleriyle başlamıştır. Gen teknolojisi akrabalık ilişkisi olmayan cins ve türler arasında biyoteknolojik yöntemler kullanılarak gen aktarımının yapılması, ıslah edilmiş yeni cins ve türlerin gelişmesinde kullanılan yoldur (Holst-Jensen, 2009; Firidin, 2010; Göneş, 2012). Genetik mühendisliği ile evrimsel olarak akraba olmayan bitki, fungus, virüs ve bakterilerden gen aktarmak mümkün olmuştur (Rivera vd., 2012). Bitkilerde gen klonlamasında başlıca 4 temel vektörden yararlanılmaktadır; plazmid vektörler, faj vektörler, viral vektörler ve bakteriyel vektörler (Primrose, 2006; Arda, 2007). Bitkilere gen aktarımında iki farklı yöntemm kullanılmaktadır. Bunlar; doğrudan ve dolaylı yöntemlerdir (Rao vd., 2009).

2.2.1. Dolaylı Yoldan Gen Aktarım Yöntemleri

Dolaylı yoldan yapılan gen aktarımlarında yabancı genin konak hücreye aktarılabilmesi için bir bakteriye ihtiyaç duyulmaktadır (Rao vd., 2009). Bitkilerde dolaylı yoldan gen aktarımı plazmid bulunduran bakteriler (*Agrobacterium tumefaciens* ve *Agrobacterium rhizogenes vb.)* yardımı ile istenilen genin hedeflenen hücreye aktarılabilmektedir (Zupan vd., 1997; Patnaik ve Khurana, 2001; Rakoczy-Trojanowska, 2002;). *A. tumefaciens* Ti plazmidi ile bitkilerde taç tümörüne, *A. rhizogenes* ise bitkilerde Ri plazmidi ile saçak kök hastalığını sebep olmaktadır (Meyers vd., 2010; Barampuram ve

Zhang, 2011). Plazmidlerin kopyalanması bakteriyel kromozomlara benzemektedir ve konak içindeki kendi replikasyonlarını düzenleyen genlere sahiptirler (Bendich, 1987; Hagemann, 2004). Dolaylı yoldan gen aktarımında *Agrobacterium*'un patojenitesinden yararlanılmakta ve bakterinin taşıdığı plazmid bir vektör görevi görerek, bitki hücresine gen aktarımnı sağlar (Rao vd., 2009).

Basitliği ve etkinliği sayesinde bu yöntemle çok sayısıda aktarım yapılabilmektedir (Michielse vd., 2005). Basit ve karmaşık DNA segmentlerinin aktarımını ve etkinliğini sağlayan bu yöntem *Agrobacterium* dışındaki bakteri suşlarıyla yapılabilen dolaylı yoldan gen aktarımları (Broothaerts vd., 2005) ve doğrudan aktarım yöntemlerine göre daha çok tercih edilir (Barampuram ve Zhang, 2011).

2.2.2. Doğrudan Gen Aktarım Yöntemleri

Biyolistik Yöntemle Aktarım

Biyolistik yöntemi, partikül bombardımanı ya da gen tabancası olarak da adlandırılabilmektedir. Makro partüküller (mermiler) yaklaşık 2 mikron çapındadır ve bitki hücrelerine helyum gazı yardımıyla hızla atılarak taşıdıkları DNA'yı bırakmaları sağlanır. Aktarılacak olan DNA'yı kaplamak için altın, tungsten ya da platin partiküller kullanılır. İki çenekli bitki türünde *A. tumefaciens* aracılığıyla gen aktarımından daha kolay olduğu için bu yolla transgenik bitkiler üretilebilmiştir (Kikkert, 1993; Southgate vd., 1995).

Elektroporasyon ve PEG Aracılığıyla Aktarımı

DNA moleküllerinin geçebileceği büyüklükte gözenekler oluşturmak için elektrik akımı veya kimyasal maddeler (%15-25 PEG: polietilen glikol) kullanılır. Bu şekilde aktarılacak DNA'nın hücre içerisine daha kolay alınması kolaylaşmaktadır (Özcan ve Özgen, 1996).

Mikro Enjeksiyon İle Gen Aktarımı

Kallus, meristem ve mikrospor gibi hedeflere DNA parçası kılcal boyutlardaki(0.5-10 μm çapında) pipet veya enjektörler yardımıyla aktarılır (Özcan ve Özgen, 1996). Bu yöntem kullanılan malzemeler ve işlem açısından yavaş ve zahmetli olmasına rağmen verimliliği yüksektir, sonuç ise kesindir (Jones-Villeneuve vd., 1995).

Vakum İnfiltrasyonu İle Gen Aktarımı

Bakterilerin mitoz ve mayoz bölünmelerinin yoğun olarak gerçekleştiği bitki kısımlarına, birkaç dakika boyunca uygulanan 0.05 bar'lık basınç yardımı ile doğrudan yerleştirilmesi esasına dayanan bir yöntemdir. *Agrobacterium tumefaciens* aracılığıyla bitki transformasyonunu kolaylaştırmak için kullanılmaktadır (Rakoczy-Trojanowska, 2002; Rivera vd., 2012).

Ultrason İle Gen Aktarımı

Bu yöntemin diğer adı sonoporosyodur. Hücre zarı geçirgenliğinin geçici olarak değiştirilmesi için ultrasonik dalgalar oluşturması esasına dayanmaktadır (Miller vd., 2002, Liu vd., 2006).

Lazer Mikroışınlar İle Gen Aktarımı

Lazer mikro ışınlarının hücre duvarını delmesiyle DNA parçasının hücreye aktarılması esasına dayanan bir yöntemdir (Weber vd., 1990).

Cam Baloncuklarla Çalkalama Yöntemi İle Gen Aktarımı

Bu yöntem hücrelere aktarılmak istenen genin bulunduğu plazmid DNA'lar ve cam baloncuklarla dolu ortamda çalkalanarak gen aktarımının yapılması esasına dayanır. Özel ekipman ve kimyasal ihtiyacı bulunmayan bu yöntem kolay ve ucuzdur. Ancak yöntemin yapımı esnasındaki çalkalama işlemi çok fazla hücre hasarı oluşturduğundan verimi düşüktür (Rivera vd., 2014).

2.3. Genetiği Değiştirilmiş Organizmaların Kullanım Amaçları

GDO'lar, tarım, hayvancılık, tıp, çevre ve endüstriyel uygulamalar olmak üzere geniş bir alanda kullanılmaktadır.

2.3.1. GDO'ların Tarım Alanında Kullanımları

Besin Kalitesine Yönelik Faydaların Arttırılması

Gen aktarım teknolojisi ile ürünlerin besin miktarlarının arttırılması mümkündür (Maclean, 2003). İnsanların sağlığının korunmasında yeterli ve dengeli beslenmeleri önemli bir faktördür. Bu sebeple insanların tükettikleri besinlerin, besin değerlerinin

artırılmış olması önemlidir. Bilim insaları besin değerlerini arttırmak amacıyla yapmış oldukları bir çalışmada A vitamini değeri yükseltilmiş pirinç üretmişlerdir (Van den Bergh, 2002). Çilekte C vitamini düzeyi, domates ve biberde ise önemli bir antioksidan olan likopenin düzeyi artırılmıştır (Uzogara, 2000). Vücuttaki kolesterol miktarını kontrol altına almak amacıyla GD soya ve kolza bitkilerinin doymamış yağ oranı artırılmıştır (Çiçekçi, 2008; Spök, 2008).

Meyve ve Sebzelerin Raf Ömrü ve Organoleptik Kalitelerinin Artırılması

Meyvelerdeki olgunlaşma ve yumuşamaya sebep olan enzim hücreler tarafından üretilen etilendir (Arda, 1995). Sebzelerdeki yumuşamayı geciktirmenin yollarından biri etilen üretimine sebep olan genlerin kontrol altına alınması diğeri ise hücre duvarının yıkımına sebep olan poligalakturonaz enziminin baskılanmasıdır (Arda, 1995; Uzogara, 2000). Amerikalı bir şirketin üretmiş olduğu Flavr Savr domatesleri Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi tarafından onaylanan ilk genetik modifiye üründür. Bu domateslerin olgunlaşma ve yumuşama işlemleri geciktirilerek uzun raf ömrüne sahip domateslerdir (Uzogara, 2000).

Bitkisel Ürün Veriminin Arttırılması

Artan nüfusu besleyecek miktarda üretim için ekilebilir alanların genişletilmesi değil, birim alandan alınan ürün veriminin artırılması gerekmektedir. Bitkilerin ürün verimini artırmak amacıyla verimi düşüren böcekler, herbisitler, virüsler, sıcaklık gibi faktörlere dayanıklı bitki çeşitleri geliştirelebileceği düşünülmüştür (Kıyak, 2004). Bu amaçlar doğrultusunda yapılan çalışmalara örnek olarak herbisitlere dayanıklılık kazandırılan Roundup-ready soya (Anonim, 2002a) böcek ve herbisitlere karşı dirençlilik geni kazandırılan BT11 mısır verilebilir (Anonim, 2007).

2.3.2. GDO'ların Hayvansal Alanda Kullanımları

Üreme hücrelerine gen aktarımı yoluyla transgenik hayvanlar üretilmektedir. Hayvanlara yapılan gen aktarımı ile amaçlanan hayvanlardan elde edilen ürünlerin (et, süt vs.) verimini artırmak, bun ürünlerde değişiklik (az yağlı et, laktozsuz süt vs.) yapmak, hayvanların besinlerden faydalanmalarını artırmak yoluyla çabuk büyümelerini sağlamak, hayvanların hastalıklara direncini artırmaktır (Arda ve Yardımcı, 2005).

2.3.3. GDO’ların Tıp Alanında Kullanımları

Tıbbi Bileşiklerin Üretimi

Genetik modifiye organizmalar ilaç endüstrisinde kullanılan vitaminler, monoklonal antikorlar, aşılar, antikanser bileşikleri, anti-oksidantlar, plastikler, fiberler, polyesterler, afyonlu ilaçlar/uyku ilaçları, insan kan proteinleri üretmek için kullanılabilmektedir (Çiçekçi, 2008).

Doku ve Organ Transplantasyonu

Bazı çiftlik hayvanlarının organlarının (keçi, koyun, domuz gibi) klonlanarak, organ naklinde kullanılabilecek kalp, karaciğer, böbrek ve fetal hücreler vb. geliştirilmesine yönelik çalışmalar devam etmektedir (Uzogara, 2000).

2.3.4. Endüstriyel Alanda Kullanımları

GDO’ların gıda endüstrisinde kullanım alanları protein, enzim, stabilizatör vb. gibi gıda karışımları üretmektir. Örneğin hayvanlardan elde edilen kimozin (rennin) enzimleri mikroorganizmalara aktarılarak daha kolay ve ulaşılabilir hale gelmiştir (Uzogara, 2000).

2.3.5. Çevresel Faydaları

Genetiği değiştirilmiş ağaclar %50 daha az lignin ve %15 daha fazla selüloz içermektedir. Bu sayede GDO’lu ağaçlardan elde edilen kağıt verimi doğal olanlara oranla arttırılmıştır. GDO’lu ağaclar diğer türlerine göre %25-30 daha uzundur. Bu da kağıt üretiminde alan, kimyasal ve enerji kullanımını azaltmakta, verimi arttırmakta aynı zamanda kağıt üretiminin çevreye olan olumsuz etkisini minimize etmektedir (Ruse ve Castle, 2002).

2.4. Genetiği Değiştirilmiş Organizmalardan Kaynaklanan Riskleri

Genetik yapısı değiştirilmiş organizma kullanım ile meydana gelebilecek riskleri, insan ve hayvan sağlığı, çevre, sosyo-ekonomik yapı ve besin kalitesine etkileri şeklinde 4 ana başlık altında toplanabilmektedir (Anonim, 2002b).

2.4.1. İnsan ve Hayvan Sağlığı Üzerine Etkiler

Alerjik Reaksiyonlar

Gıda alerjileri bağışıklık sistemiyle ilgilidir. Süt, yumurta, balık, kabuklu deniz mahsulleri, fıstık, soya fasulyesi ve buğday gibi bazı gıdalar alerjik olarak sayılabilmektedir (Çiçekçi, 2008). GDO'lu gıdalar ile ilgili alerjik reaksiyonlara bir örnek ise ABD ‘‘StarLink’’ adlı mısır türü örneğidir. ABD bu bitkinin sadece insan tüketimi dışı amaçlar için üretimine izin vermektedir. Bunun nedeni ‘‘StarLink’’ mısırda yer alan bir Bt protein türünün daha yavaş sindirilmesi nedeniyle bazı kişilerde alerjik reaksiyonların gözlemlenmesidir (Özmert-Ergin ve Yaman, 2013).

Alerjik reaksiyonlar konusunda çekinmelerin en temel nedeni genetik bilimindeki genlerin tek başına çalışmadığı bilgisidir. Bir organizmadan çıkarılan ya da eklenen genin beklenmeyen etkilere sebep olabileceği düşünülmektedir (Yanaz, 2008). Genetik aktarım sonucunda gen aktarılan hücrede protein üretimi sonucunda beklenmeyen reaksiyonlar ve toksinler orataya çıkabilmektedir (Fagan, 2005).

Toksik Etkiler

Genetiği değiştirilmiş ürünlerin olumsuz reaksiyonlarından biri toksin oluşturmalarıdır (Van den Bergh, 2002). 1967 yılında Amerika'da üretilen Lenapo patatesi cips üretiminde kullanılmak üzere kuru maddesi yüksek olacak şekilde geliştirilerek satışa sunulmuştur. İki yıl sonra ise Lenapo patatesinin toksini oluşturduğu tespit edilmiştir. Bu sebeple Amerikan Tarım Bakanlığı tarafından satışı durdurulmuş ve toplanmıştır (Erol, 2007).

Kanserojen Etkiler

Hayvanlarda süt verimini artırmak için genetiği değiştirilmiş sığır büyüme hormonu enjekte edilmiştir. Ancak büyüme hormonunun hayvanlarda hem normal hücrelerin hemde kanserli hücrelerin büyümesine sebep olduğu görülmüştür. Kanda büyüme hormonu arttıkça lenf, göğüs, rahim gibi kanser hücrelerinin arttığı ortaya çıkmıştır (Özmert-Ergin ve Yaman, 2013).

2.4.2. Çevresel Etkiler

Çevre bilimciler genetiği değiştrilmiş bitkilerin geniş alanlarda ekimi ve yetiştirilmesi konusunda risklerin oranının yükselmesinden dolayı endişe duymaktadırlar (Uzogara 2000, Çelik ve Turgut-Balık, 2007). Bu endişeler şu şekilde sıralanabilir; GD bitkiler doğla türlerle rekaber ederek doğal türlerin yok olmasına sebep olabilir (Kıyak, 2004; Çelik ve Turgut-Balık, 2007; Bildirici, 2008), GD bitkiler çapraz bulaşma sonunu doğal türlerin genetik yapısını bozabilir ve genetik çeşitlilikte kayıplara yol açabilir, yaşanabilecek çapraz tozlaşma sonucunda istilacı türler ortaya çıkabilir (Uzogara 2000; Çelik ve Turgut-Balık 2007; Bildirici, 2008).

2.4.3. Sosyo-Ekonomik ve Etik Alanında Riskler

GDO'ların sosyo-ekonomik alanda da bazı riskleri mevcuttur. Bu riskleri şu şekilde özetlenebilir; pahalı tohum fiyatları, büyük şirketlerin yüksek ölçekteki üretimleri sonucu küçük çiftçilerin zarar görmesi, bu teknolojiyi üreten gelişmiş ülkelerin Dünya gıda ticaretini ellerinde tutmaları, organik ve diğer sürdürülebilir tarım yöntemlerine zarar görmesi (Uzogara, 2000; Okusu, 2003).

2.4.4. Besin Kalitesine Etkileri

Gıda ürünlerine aktarılan genler besinsel özelliklerde beklenmeyen değişiklikler yapabilir. Besinlerin bazı özelliklerinin geliştirilmesi esnasında bazı özelliklerinin azalma görülebilir. Bu durum genetik modifikasyon sonucu üretilen ürün ile geleneksek yolla üretilen ürün arasında eşdeğerlik bakımından fark yaratır. Bitki ve hayvansal gıdaların besinsel değişimlerinin, besin-gen etkileşimi, besinlerin metabolizma üzerine etkisi, bu besinlerin gen ifadesinin kompleks düzeniyle ilgili henüz yeterli bilgi yoktur (Uzogara, 2000).

2.5. Genetiği Değiştirilmiş Gıdalar İle İlgili Yasal Düzenlemeler

Genetik modifiye bitkilerin insan sağlığı ve çevre üzerine muhtemel olumsuz etkileri tartışılmaya devam etmektedir. ABD ilk GD bitkinin yetiştirildiği ülkedir aynı zamanda dünya üzerinde en büyük GD bitki ekim alanıda bu ülkededir (EFSA, 2004). Bu tartışmalar sebebi ile genetiği değiştirilmiş gıdaların üretimi ve tüketimi konusunda ülkelerin farklı uygulamaları mevcuttur.

2.5.1. Birleşmiş Milletler Biyolojik Çeşitlilik Sözleşmesi

BM Rio zirvesinde 1992 yılında imzalanan bu sözleşme biyolojik çeşitliliğin mevcut ve gelecek nesiller için korunması ve sürdürülebilir bir şekilde kullanılmasını hedefler. Türkiye bu sözleşmeyi 1996 yılında imzalayarak taraflardan biri olmuştur. Biyolojik Çeşitlilik Sözleşmesi bağlayıcı bir sözleşmedir. İmzalaya devletlere bazı zorunluluklar getirmektedir. Bunlar zorunluluklar;

- ✓ Ulusal stratejilerin belirlenmesi, bir aksiyon planı ve programının oluşturulması.
- ✓ Biyolojik çeşitliliğin, öncelikli korunma ihtiyacı olan türlere veya mekanlara öncelik verilmesi ve izlenmesi.
- ✓ Koruma bölgelerinin belirlenmesi ve kurulması.
- ✓ Koruma altına alınmayan alanlarda da, doğa ve kaynakların kullanımında sürdürülebilirlik ilkesinin geçerli olması.
- ✓ Sözleşmenin uygulanması için gerekli yasal ve idari düzenlemelerin yapılması.
- ✓ Biyolojik çeşitliliğin değeri ve önemi konusunda halkın eğitilmesi.
- ✓ Bu konuda yapılan araştırmaların ve bulguların ülkeler arasında serbestçe paylaşılması.
- ✓ Gelişmiş ülkelerin, biyolojik çeşitliliğin korunabilmesi için gelişmekte olan ülkelere gerekli maddi ve teknolojik desteği sağlamaları.

Alınan kararlar, ülkelerin biyolojik güvenlik mekanizmasının kurulması için temel oluşturmuştur. GDO ihraç eden ülkelerin GDO'lar ile ilgili protokol hazırlamaları gerekliliği vurgulanmış ayrıca GDO'ların doğal çevre, insan sağlığı, sosyo-ekonomik yapı hakkında her türlü bilgiyi içeren "ön bildirim" yapmalarını gerekli görülmüştür (Talu, 2005).

2.5.2. Birleşmiş Milletler Cartagena Biyogüvenlik Protokolü

Cartagena Biyogüvenlik Protokolü, Birleşmiş Milletler Biyolojik Çeşitlilik Sözleşmesine ek protokol olarak hazırlanmış ve yürürlüğe girmiştir. Protokol 29 Ocak 2000 tarihinde imzaya açılmış, 11 Eylül 2003 tarihinde dünya genelinde yürürlüğe girmiş olup, 199 ülke tarafından kabul edilmiştir. Ülkemizde protokolün yürürlüğe girişi 24 Ocak 2004 tarihindedir (Talu, 2005). Protokol genel çerçeve itibariyle aşağıdaki hususları içermektedir;

- ✓ GDO’ların sınır aşan hareketleri öncesinde sevkin gerçekleştirileceği ülke veya ülkelere “ön bildirim” yapılması ve ithalâtı kabul edilen GDO’ların “etiketlenmesi”,
- ✓ İthal edilecek gıda ve hayvan yemi olarak tüketilecek GD ürünlerin 270 gün önceden risk analizinin yapılması,
- ✓ GDO’ların ekolojik riskleri ile ticareti arasındaki dengelemenin değerlendirilmesi,
- ✓ Protokol ile ticaret anlaşmaları arasında karşılıklı destekleyiciyi, bağımsızlık ve aynı uygulama gücünün öngörülmesi.

Cartegena Biyogüvenllik Protokolü insan sağlığında oluşabilecek riskler göz önüne alınarak, biyolojik çeşitliliğin korunmasını ve sürürülebilirliğini olumsuz etkileyebilecek her türlü organizmanın sınır ötesi hareketi, transit geçişi ve kullanılması için geçerlidir. İnsanlar için ecza malzemesi olarak değiştirilmiş canlı organizmalar, protokol kapsamı dışında tutulmaktadır (Talu, 2005).

2.5.3. Avrupa Birliği Direktifler

98/81/EC Kodlu Direktif: Çevre ve insan sağlığının GD-mikroorganizmaların kapalı kullanımından kaynaklanabilecek risklere karşı korunması hakkında direktif (Eski 90/219/EEC)

1139/98/EC AB-29 Mayıs Konsey Düzenlemesi: Genetiği değiştirilmiş ürünlerin etiketlenmesi

2001/18/EC Kodlu Direktif:GDO’ ların çevreye kasıtlı bırakılması hakkında direktif (Eski 90/220/EEC)

1829/2003 Kodlu Direktif: GD-gıda ve yem hakkında düzenleme: (Eski 258/ 97 Yeni gıda ve gıda içerikleri)

1830/2003 Kodlu Direktif: GDO’ların ve ürünlerinin etiketlenmesi ve izlenebilirliği hakkında düzenleme

1946/2003 Kodlu Düzenleme: GDO’ların sınır aşan hareketi hakkında düzenleme (Cartagena Protokolünün AB’deki yasası)

2003/556/EC Kodlu Direktif: Geleneksel ürünlerde GDO varlığı hakkında rehber

65/2004/EC Kodlu Mevzuat: GDO’lara ait ayırıcı kimlik ve bunun geliştirilmesi ile ilgili mevzuat (EUR-Lex, 2019).

2.5.4. Türkiye'de Biyogüvenlik ve Alınan Kararlar

2003 yılı ve sonrasında imzalanan Cartagena Biyogüvenlik Protokolü ve AB Direktifleri Türkiye'deki biyogüvenlik alanındaki kanun ve politikaların temelini oluşturmaktadır (Erbaş, 2008).

Türkiye'de genetik yapısı değiştirilmiş (transgenik) bitkiler ile ilgili olarak ilk mevzuat hazırlık çalısmaları Tarım ve Köyişleri Bakanlığı tarafından 1998 yılı başında başlatılmıştır. 14 Mayıs 1998 yılında yayınlanan 'Transgenik Bitkilerin Alan Denemeleri Hakkındaki Talimat' hem yurt içind ehemde ithal edilen trangenik bitkiler ilgili uygulanacak kuralları içermektedir. Transgenik bitkilerin ithalatı konusunda Türkiye'de çok fazla hukuksal boşluk yaşanmıştır. "Genetik Yapısı Değiştirilmiş Organizmalar ve Ürünlerine Dair Yönetmelik" ile "Biyogüvenlik Kurulu ve Komitelerinin Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik" in 13 Agustos 2010 tarihinde kabulü ile bu boşluklar ortadan kaldırılmaya çalışılmıştır (Güngören, 2012).

2.5.5. Biyogüvenlik Kanunu

Genetiği değiştirilmiş gıdaların insan sağlığı açısından uzun dönemde yaratacağı etkiler ile ilgili henüz kesin bir bilgi yoktur. Bu teknoloji hala büyük birkaç ülkenin tekelinde olduğundan, bu alanda gelişmekte olan ülkelerde dışa bağımlılığı arttıracak ve barışçıl olmayan amaçlarla kullanımı kimi riskleri beraberinde getirecektir. Risk oluşturma ihtimali olan bu ürünlerde risk analizi yapılmalı ve önlemler alınmalıdır (Özcenalp, 2006).

Ülkemizde bu amaçla biyogüvenlik kanunu yürürlüğe konulmuştur. Biyogüvenlik Kanunun hedefi modern biyoteknoloji yöntemleri kullanılarak elde edilen genetik yapısı değiştirilmiş organizmalarve bunlardan elde edilen ürünlerinden kaynaklanabilecek riskleri engellemek insan, hayvan ve bitki sağlığı ile çevrenin ve biyolojik çeşitliliğin korunması, sürdürülebilirliğinin sağlanması amacıyla biyogüvenlik sisteminin kurulması-uygulanması, bu faaliyetlerin denetlenmesi, düzenlenmesi ve izlenmesi için gereken esasları belirlemektir (Biyogüvenlik Kanunu, 2010).

GDO'lu ürünlerle ilgili denetim ve kontroller Biyogüvenlik Kanunu ve Genetik Yapısı Değistirilmiş Organizmalar ve Ürünlerine Dair Yönetmelik kapsamında Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından yürütülmektedir (Güngören, 2012).

Türkiye'de Biyogüvenlik Yasası dahilinde, gıda amaçlı kullanına onay verilen hiçbir GDO bulunmamaktadır. (Brookers, 2012). GDO içeren ürünlerin etiketlenmesi zorunludur. GDO etiketlemesini gerektiren eşik değer %0,9'dur. Eşik değeri, geleneksel

üretim yapılsa dahi ticaret veya dolaşım sırasında kaynaklanabilecek bulaşmaları göz ardı edebilmek için ortaya çıkmış bir rakamdır. Türkiye'de yem ve hayvancılık sektöründe GDO içeren bazı ürünlere izin verilmektedir (Celen, 2014).

Türkiye'de GDO'lu ürünlerin onay sistemi diğer ülkelere göre farklıdır. Türkiye aynı özellikteki GDO'ların hayvan yemi ve insan gıdası olarak kullanılmasına aynı anda izin vermeyen tek ülkedir (Brookers, 2012). 2012 yılında Türkiye'de, sadece yem amaçlı olarak soyada 3 ve mısırda 16 değiştirilmiş gene onay verilmiştir Bu durum yıllar geçtikçe değişmekle birlikte diğer ülkelerde yaygın olarak kullanılan 30 GD mısır ve 20 GD pamuk çeşitine izin vermemektedir (Brookers, 2012).

Türkiye' de GD ürün kullanımında yemlik amaçlı transgenik soya ve mısır çeşitleri kullanılabilmektedir. 2019 yılı itibariyle ise 10 adet Soya, 26 adet Mısır çeşiti olmak üzere 36 çeşit GD bitki kullanımına izin verilmektedir. Türkiye'de kullanımına izin verilen GD bitki çeşitleri Tablo 2.1' de verilmiştir.

Tablo 2.1. Türkiye'de kullanımına izin verilen GD bitki çeşitleri, ayırt edici kimlikleri

GD BİTKİ ADI	ÇEŞİT	AYIRT EDİCİ KİMLİK
SOYA	A2704-12	ACS-GMØØ5-3
SOYA	MON40-3-2	MON-Ø4Ø32-6
SOYA	MON89788	MON-89788-1
MISIR	Bt11	SYN-BTØ11-1
MISIR	DAS1507	DAS-Ø15Ø7-1
MISIR	DAS59122	DAS-59122-7
MISIR	DAS1507xNK603	DAS-Ø15Ø7-1xMON-ØØ6Ø3-6
MISIR	NK603	MON-ØØ6Ø3-6
MISIR	NK603 x MON810	MON-ØØ6Ø3-6xMON-ØØ81Ø-6
MISIR	GA21	MON-ØØØ21-9
MISIR	MON89034	MON-89Ø34-3
MISIR	MON89034xNK603	MON-89Ø34-3xMON-ØØ6Ø3-6
MISIR	Bt11xGA21	SYN-BTØ11-1xMON-ØØØ21-9
MISIR	59122x1507xNK603	DAS-59122-7xDAS-Ø15Ø7xMON-ØØ6Ø3-6
MISIR	DAS1507x59122	DAS-Ø15Ø7-1xDAS-59122-7
MISIR	MON88017XMON810	MON-88Ø17-3xMON-ØØ81Ø-6
MISIR	MON88017	MON-88Ø17-3
MISIR	MON810	MON-ØØ81Ø-6
MISIR	59122xNK603	DAS-59122-7xMON-ØØ6Ø3-6
MISIR	MIR604	SYN-IR6Ø4-5
MISIR	MON863	MON-ØØ863-5
MISIR	T25	ACS-ZMØØ3-2
SOYA	MON87701	MON-877Ø1-2
SOYA	MON87701xMON89788	MON-877Ø1-2xMON-89788-1
SOYA	356043	DP-356Ø43-5
SOYA	A5547-127	ACS-GMØØ6-4
MISIR	Bt11xMIR604	SYN-BTØ11-1 x SYN-IR6Ø4-5
MISIR	MIR162	SYN-IR162-4
MISIR	MIR604xGA21	SYN-IR6Ø4-5 x MON-ØØØ21-9
MISIR	MON863xMON810	MON-ØØ863-5 x MON-ØØ81Ø-6
MISIR	MON863xNK603	MON-ØØ863-5 x MON-ØØ6Ø3-6
MISIR	MON89034xMON88017	MON-89Ø34-3xMON-88Ø17-3
SOYA	MON87708	MON-877Ø8-9
SOYA	BPS-CV127-9	BPS-CV127-9
SOYA	MON87705	MON-877Ø5-6
MISIR	MON87460	MON 8746Ø-4

2.6. Genetiği Değiştirilmiş Organizmaları Tespit Yöntemleri

GDO tespit çalışmalarında temelde iki yöntem vardır. Bunlar; Protein temelli ve DNA temelli GDO tespit yöntemleridir.

2.6.1. Protein Temelli GDO Tespit Yöntemleri

Protein düzeyindeki analizler gen tarafından ifade edilen yeni özgün proteinin tespitine olanak sağlayan yöntemlerdir ve antikor ile antijenin özgün olarak bağlanması temeline dayanan immünolojik testlerdir (Spiegelhalter vd., 2001; Kıran ve Osmanağaoğlu 2011). Antikorlu immünolojik teknolojiler/uygulamalar, hedef analitler bilindiğinde kompleks matrislerde bulunan birçok çeşit proteinin kalitatif ve kantitatif analizinin yapılmasında ideal yöntemlerdir. İhtiyaç duyulan miktara ve saptama spesifikliğine bağlı olarak, monoklonal ve poliklonal antikorlar kullanılabilir (Farid, 2002; Pan, 2002).

Western Blot Yöntemi

Bir örneğin içerdiği hedef proteinin önceden belirlenen treshold seviyesinden yüksek mi düşük mü olduğunu belirlemede kullanılan çok hassas kalitatif metottur. Özellikle çözünmeyen proteinlerin analizi için oldukça kullanışlıdır (Farid, 2002).

ELISA Yöntemi (Enzyme-linked ımmunosorbant assay)

Bu teknik, enzim ile işaretlenmiş immunoreaktan ve immunosorbentinin katı bir desteğe bağlanması temeline dayanmaktadır (Baran-Ekinci, 2008). Bu yöntem aranan protein için geliştirilmiş antikor ile proteinin etkileşimi sonucunda renk değişimi esasına dayanır. Ticari kitler ve standar eğriler kullanılarak renk değişimine göre kantitatif tayin de yapılabilmektedir (Spiegelhalter vd., 2001; Kıran ve Osmanağaoğlu, 2011).

Yanal Akış Bandı Yöntemi

Yanal akış bandı yöntemi ELISA yönteminin farklı bir versiyonudur. Mikro titrasyon kuyucukları yerine bantlar kullanılmaktadır. Genetiği değiştirilmiş proteinin barındığı bu bant, bitki dokusu ekstraktını içeren plastik bir eppendorf viyaline konulur. Böylece antikor ve renk reaktifi çiftinin oluşturduğu bir antikor sandviçi oluşur. Bu renkli sandviç, gözenekli bir membran boyunca bandın diğer ucunu takip eder. Gözenekli membranın iki adet yakalama ucu vardır. Bunlardan biri genetiği değiştirilmiş protein sandviçi için, diğeri ise renk reaktifiyle çift oluşturan işlem görmemiş spesifik antikorlar içindir (Çakmak, 2010).

2.6.2. DNA Temelli GDO Analiz Yöntemleri

GD gıdaların DNA'ya dayalı tespit yöntemleri DNA'nın iki ipliğine uygun diziler içinde hibrit oluşturarak spiral şekilde birbirimi tamamlamasına dayanır (Miraglia vd., 2004).

Agaroz Jel Elektroforez

Agaroz jel elektroforez yöntemi DNA'nın miktar ve büyüklüğü hakkında bilgi veren bir yöntemdir. Çoğaltılması sağlanan DNA'nın çeşiti ileriki işlemlerle doğrulanabilir. Agaroz Jel Elektroforezi PCR ile çoğaltılmış DNA moleküllerinin kalitatif analizlerinde tercih edilmektedir (Miraglia vd., 2004).

Southern Blot Analiz Yöntemi

Bu metot izole edilmiş DNA parçasının nitroselülоz veya naylon memranlar üzerinde eşleniği olan DNA parçası ile hibridizasyonuna ve hibridizayonun ardından radyoaktif, kimyasal ya da floresan yöntemlerle tespit edilmesi tekniğine dayanmaktadır (Karamollaoğlu, 2007).

Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PCR tekniği, ilk olarak 1985 yıllında Cetus firması araştırıcıları tarafından geliştirilmişolup nükleik asitlerin canlı organizma içinde bulunmadan, uygun koşullar altında çoğaltılmasına dayanmaktadır (Heller, 2006) . PCR hedef nükleik asit zincirlerinin primer adı verilen spesifik komplementer oligonukleotidler ve ısıya dayanıklı polimeraz enzimleri (Taq) kullanılarak in vitro olarak coğaltılmasını (amplifikasyonunu) sağlayan; oldukça özgün ve güvenilir moleküler biyolojik bir tekniktir (Türkyılmaz ve Esendal, 2006; Weirich, 2007). Bu teknikte kalıp olarak kullanılan tek ya da çift zincirli DNA molekülüne ilave olarak, iki oligonukleotid primer, dNTP (deoksiribonukleozidtrifosfat), ısıya dayanıklı polimeraz enzimi ve buffer içerisindeki magnezyum iyonlarına ihtiyaç duyulur (Primrose ve Twyman, 2006).

PCR tekniği 3 aşamadan oluşur;

1)DNA Zincirinin Açılması (Denatürasyon)

Kalıp DNA 92-95°C'de 1-2 dakika ısıl iişlem görmesiyle çift sarmal yapıdaki DNA iplikcikleri birbirlerinden ayrılır (Primrose ve Twyman, 2006).

2)Primerlerin Açılan DNA Zincirlerine Yapışması (Bağlanma)

Reaksiyon sıcaklığı 37-65°C'ye düşürülerek oligonukleotid primerlerinin açılan DNA zincirlerinin kendi baz dizilerine karşılık gelen bölgeye yapışması sağlanır. Bu işlem, 30-60 saniyede gerçekleşmektedir (Primrose ve Twyman, 2006).

3)Primer Uzaması

DNA zincirleri üzerine yapışan primerlerin DNA polimeraz enzimi (Taq DNA polimeraz) vasıtasıyla uzatılmasıdır. Taq DNA polimeraz enziminin optimum çalışma sıcaklığı 72°C'dir. Bu sebeple primer uzama işlemi bu sıcaklıkta gerçekleştirilir (Primrose ve Twyman, 2006).

Üç basamaktan (denatürasyon, bağlanma, uzama) oluşan işlem, bir PCR döngüsünü temsil eder. Bu işlem, genel olarak 25 ile 40 defa tekrar edilerek başlangıçtaki DNA dizisinden milyonlarca yeni DNA parçacığı çoğaltılır (Türkoğlu, 2007).

Kalitatif PCR Yöntemi

PCR Yöntemi DNA polimeraza matrikste düşük oranda bulunan spesifik DNA segmentlerinin de selektif amplifikasyonu imkanı vermektedir. Standart PCR analizinde 2 çift primer kullanılmaktadır. Bu primerler ilgili dizinin karşısına hibridize olabilme ve ilerleyen aşamalarda gerçekleşen 2-3 termal basamaktan oluşan tekrarlı döngüler esnasında hibridize olabilmek üzere dizayn edilmiştir (Farid, 2002).

Kantitatif End-Point PCR Yöntemi

Hedef DNA ve dahili DNA standardı beraber amplifiye ediliyorlarsa PCR'dan kantitatif sonuç elde edilir. End-Point PCR gibi kantitatif-kompetitif yöntemlerde, hem dahili standart hem de hedef DNA eş zamanlı olarak eşlendikleri için PCR inhibitörleri derhal fark edilirler. End-Point'ın yönteminin dört aşaması vardır bunlar; standart ve hedef DNA'ların birlikte amplifikasyonu, agaroz jel elektroforez ya da etidyum bromürle jelin boyanması ile ürünlerin ayrıştırılması, jelin yoğunluğa göre ölçülmesi; ve hedef ve standart DNA'ların bağıl miktarlarının regresyon analizi ile tahminlenmesi (Ahmed, 2002).

Kantitatif Real-time PCR Yöntemi

Gıdalarda yapılan GDO analizlerinde konvensiyonel kantitatif uç nokta PCR'ında ortaya çıkan bazı problemler nedeniyle, Real-time-PCR'lar kullanılmaya başlanmıştır.

(Farid, 2002). Real-time PCR, klasik PCR'ın tersine, reaksiyonun bitmesini beklemeye gerekolmaksızın reaksiyonun durumunun izlenebilmesini sağlayan gelişmiş bir teknolojidir. Kantitatif PCR olarak da özetlenebilen teknik temel olarak; her PCR döngüsü sonunda üretilen DNA miktarıyla orantılı olarak yükselen floresan sinyalin ölçülmesi esasına dayanmaktadır (Gözükırmızı vd., 2008). Real-time PCR, klasik PCR ile karşılaştırıldığında kısa zamanda (20 dk-2 saat) güvenilir data üretebildiği icin tercih sebebidir. Bununla beraber, diğer avantajları; 1) Çok uygulamalı çalışmalarda vakit kazandırması, 2) DNA ve RNA'nın çok hassas bir şekilde tespit edilebilmesi, 3) Az miktarda başlangıç materyaliyle çalışılması veya çok sayıda gen ifadesinin sınırlı RNA örneklerinde belirlenmesine imkan vermesi şeklinde sıralanabilmektedir (Gözükırmızı vd., 2008). Real-time PCR ürünlerinin kalitatif ve kantitatif analizlerinde, diziye özgün olmayan floresan boyalardan ya da diziye özgün problardan yararlanılmaktadır. Böylece sonuçlar anında alınmakta, kontaminasyon riski azalmaktadır (Heller, 2006).

Geniş Limitli Dilüsyon PCR Yöntemi

Bu metot, PCR' ın optimizasyonuna ve reaksiyon karışımında pozitif sonuç verebilecek bir ya da daha fazla hedefin önceliğine dayanmaktadır. Kesin kuantifikasyon dilüsyonu yapılan bir dizi materyalin analiz edilmesi ile yapılır. Bazı yerlerde pozitif bazı yerler de negatif olan dilüsyon sınırında hedef sayısı, negatif uç noktaların oranından Poisson istatistiği kullanılmak suretiyle yapılır. Bu metot, eklenen raportör DNA'nın birlikte çoğaltılmasına ihtiyaç duyulmaması bakımından avantajlıdır. Fakat PCR reaksiyonlarında, çeşitli dilüsyonların yapılmasından kaynaklanabilecek kontaminasyon riski için önlem almak ve dikkatli olmak gerekmektedir (Farid, 2002; Pan, 2002).

Biyoçip Yöntemi

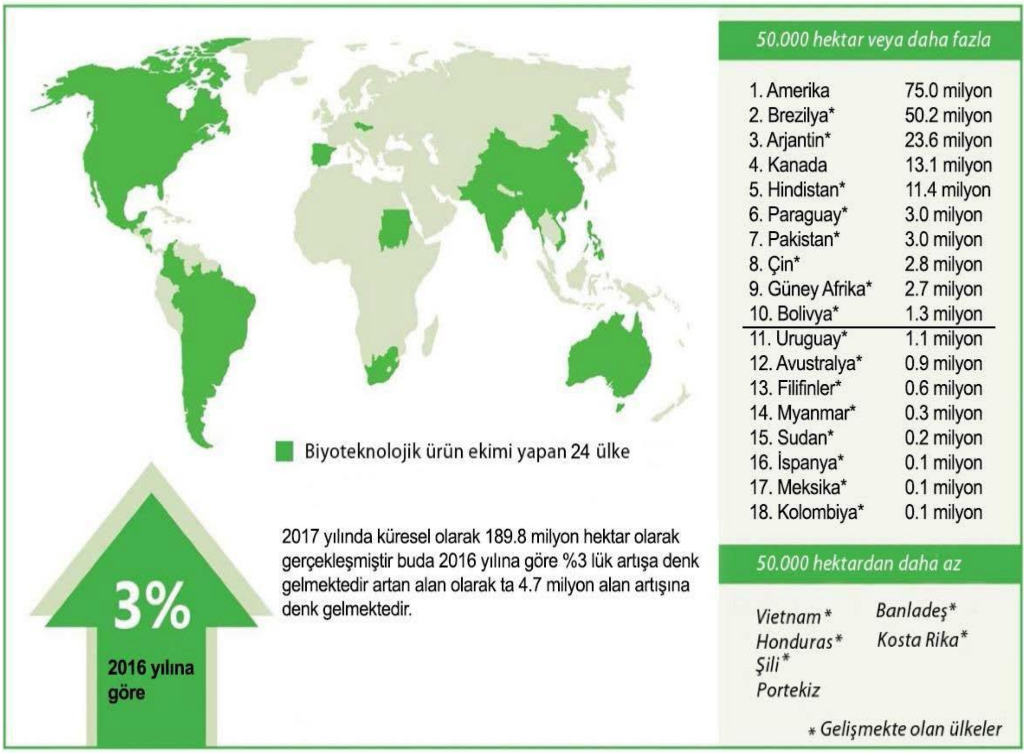
Genetiği değiştirilmiş gıdaların belirlenmesinde biyoçip kullanımına yönelik ilk çalışmalardan biri 2002 yılında Feriotto ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır. Roundup-ready soya genlerinin ve lektinin dizisini içeren biotinli tek zincir oligonükleotidler sensör çiplerin iki farklı kuyucuğuna immobilize edilmiştir. Oligonükleotid problar bu çipler üzerine enjekte edilmiş ve oluşan reaksiyonlar neticesinde GDO içeren soya örnekleri yaklaşık 40 dakikada tespit edilmiştir (Feriotto vd., 2002).

Mikroarray Yöntemi

Çeşitli PCR teknikleri ile kombine kullanılabilen bir DNA saptama metodudur. Aynı anda birden fazla genetik modifiye bölgesini saptamak mümkündür (Özçelik, 2015). Temeli, klasik DNA hibridizasyon metoduna dayanır. PCR ürünleri katı cam yüzeylerde depolanır ve mikro-elektronik arraylar ince bir agaroz ile kaplanmış elektrotlar içermektedir (Baran-Ekinci, 2008).

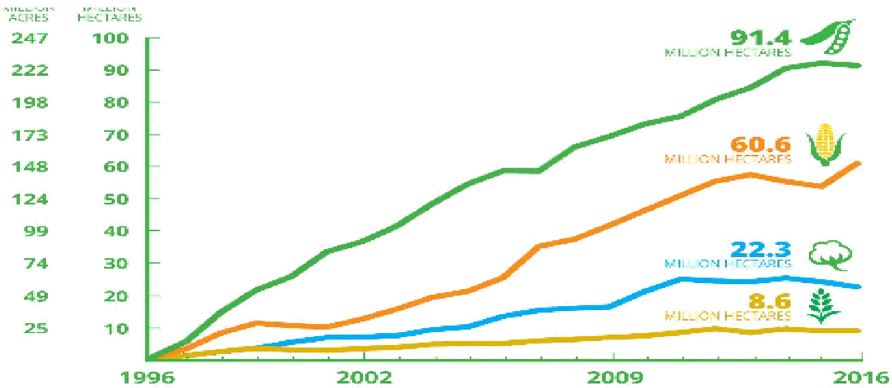
2.7. Türkiye ve Dünya Genelinde Genetiği Değiştirilmiş Bitkilerin Üretimi

1996 yılında başlayan GDO'lu ürün ekimi Dünya genelinde 1,7 milyon hektar iken 2017 yılında 189,8 milyon hektara ulaşmıştır. ISAAA 2017 raporuna göre 67 ülke biyoteknolojik ürün kullanmıştır. Biyokteknolojik ürün üretimi ise 5 gelişmiş, 19 gelişmekte olmak üzere toplam da 24 ülke gerçekleştirmiş ve bu ülkelerin dışında 43 ülke ise biyoktenolojik ürünlerin gıda ve yem amaçlı ithalatı-kullanımı için yasal düzenlemeler yapmıştır. 2016 yılında 185,1 milyon hektar olan GD mahsullerin küresel alanı 2017 yılında 189,8 milyon hektara ulaşmıştır (ISAAA, 2017). Şekil 2.1'de Dünya çapında ülkelerin GD ürün üretim miktarları verilmiştir.

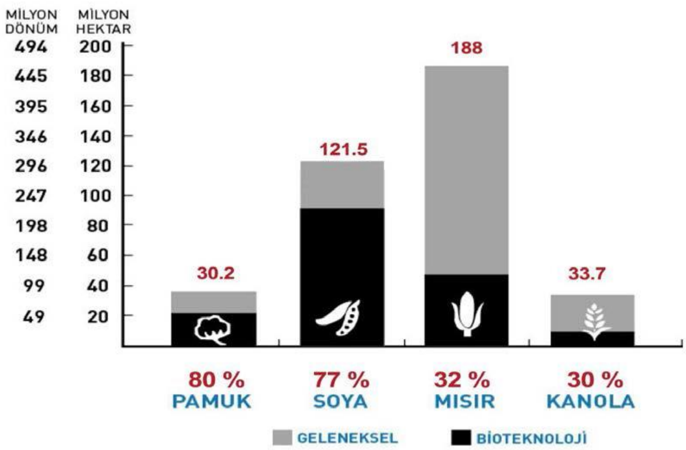


Şekil 2.1. Dünya genelindeki ülkelerin GD bitki üretim miktarları (ISAAA, 2017)

En çok üretimi yapılan GD bitki çeşitleri ise soya, mısır, pamuk ve kanoladır. Genetiği değiştirilmiş ürün üretiminin yaklaşık olarak %50’sini soya üretimi oluşturmaktadır. 2017 yılı itibariyle toplam üretim içerisinde biyoteknolojik yöntemler kullanılarak yapılan üretimlerin oranına bakıldığında toplam pamuk üretiminin %80’i GD pamuk olarak, toplam soya üretiminin %77’si GD soya olarak, toplam mısır üretiminin %32’si GD mısır olarak ve toplam kanola bitkisinin üretiminin %30’u GD kanolo olarak üretilmiştir. Genetiği değiştirilmiş soya, mısır, pamuk ve kanola bitkilerinin üretim verileri Şekil 2.2.’de bu bitkilerin geleneksel ve biyoteknolojik yöntemlerle üretilen miktarların karşılaştırılması ise Şekil 2.3.’de verilmiştir.



Şekil 2.2. Genetiği değiştirilmiş soya, mısır, pamuk ve kanola bitkilerinin üretim miktarları (ISAAA, 2017)



Şekil 2.3. Geleneksel ve biyoteknolojik yöntemlerin üretim miktarlarının karşılaştırılması (ISAAA, 2017)

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Türkiye Yem Sanayicileri Birliği'nden temin edilen RRSU bisküvi üretiminde materyal olarak kullanılmıştır. Bisküvi üretiminde kullanılan diğer malzemeler tuz TS 933, TSE, 1986, Yemeklik Tuz Standardı'na uygun olarak piyasadan, bitkisel yağ (şortening), pudra şekeri ve kabartma tozu (sodyum bikarbonat) Uğur Gıda (Isparta)'dan, mısır şurubu (HFCS %42) Sunar Mısır Entegre Tesisleri San ve Tic. A.Ş.'den (Adana), un Türkmenler Un Fabrikası'ndan (Gaziantep) temin edilmiştir. Bisküvi yapımında kullanılan su Süleyman Demirel Üniversitesi Tahıl İşleme Teknolojisi Laboratuvarı çeşme suyundan kullanılmıştır.

3.2. GDO Analizlerinde Kullanılan Kimyasal Malzemeler

DNA izolasyonu Roche High Pure DNA Isolation Kit ve Qiagen DNA Isolation Kit'i kullanılarak yapılmıştır. Kitler içerisinde yer alan kimyasallar, Liziz çözeltisi, RNase enzimi, Proteinaz K enzimi, Binding buffer, İzopropanol**,** Removel buffer**,** Elution buffer, Wash buffer, %70 etanol'dür.

Kalitatif ve kantitatif GDO analizlerinde bitki geni, bitki spesifik geni (lektin), 35S promotör bölgesi ve Roundup Ready soya analizleri yapılmıştır. GDO analizlerinde firmadan (Roche) temin edilen taranan bölgeye özgü primer, prob ve prob master (Taq polimeraz, reaksiyon tamponu ve dNTP karışımı) kullanılmıştır.

GDO analizlerinin ve cihazın doğruluğunun tespiti için %0, %0.1 ve %1'lik RR soya içeren sertifikalı referans materyaller kullanılmıştır. Sertifikalı referans materyaller (Certified Reference materials-CRM) Avrupa Birliği (AB) Institute for Referance Materials and Measurements ve European Referece Materials (IRMM, ERM) tarafından üretilmiştir. Bu ürünler, farklı oranlarda GM ürün içeren soğukta kurutulmuş homojenize unlardır. Argon gazı atmosferi altında yaklaşık 1 g halinde cam şişelerde paketlenmektedir. CRM'ler kuru, karanlık ve serin (+4°C) ortamlarda muhafaza edilmektedir. Tablo 3.1'de kullanılan CRM'ler ve oranları verilmektedir.

Tablo 3.1. Roundup-ready soya referans materyalleri

Sertifikalı Referans Materyaller	Ürün Kodu
%0 RR Soya	ERM®-BF410ap
%0.1 RR Soya	ERM®-BF410cp
%1 RR Soya	ERM®-BF410dp

3.3. Aletler ve Cihazlar

Bisküvi yapımında Süleyman Demirel Üniversitesi Tahıl İşleme Teknolojisi Laboratuvarına ait Hobart N-50 mikser, Fimak FSET4 konveksiyonel fırın, Minolta CR-410 (Germany) renk ölçüm cihazı, dijital kumpas ve analitik terazi (Radwag, AS220/C/2) kullanılmıştır. DNA izolasyonu, kalitatif ve kantitatif GDO analizleri için MAKÜ BİLTEKMER'e ait olan, Mettler Toledo MS204S hassas terazi, Velp F202A0173 vorteks, Sigma I14 mikrosantrifüj, Beckman Microfüge 16 mikrosantrifüj, Block Heating Termostat, Epoch Biotek Nanodrop UV spektrofotometre, Light Cycler 480II (Roche) Real-time PCR cihazları kullanılmıştır.

3.4. Yöntem

3.4.1. Roundup Ready Soya Unu Katkılı Bisküvi Deneme Planı

Bisküvi üretiminde 7 farklı oranda (%0, %0.1,%0.5, %0.9, %2,%50 ve %100) RRSU, buğday unu ile yer değiştirme prensibine göre bisküvi formülasyonuna ilave edilerek 3 farklı sıcaklıkta (190°C, 200°C, 210°C) her biri eşit sürede (10 dakika) pişirilmiştir. Bisküvi üretiminde hiç RRSU ilave edilmeden üretilen bisküviler kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Üretimler 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

3.4.2. Bisküvi Örneklerinin Hazırlanması

RRSU katkılı bisküvi üretimi AACC Metod 10-50.05'e göre bazı modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir (AACC, 2000). Bisküvi üretimleri, Süleyman Demirel Üniversitesi Müh. Fak. Gıda Müh. Bölümü Tahıl İşleme Teknolojisi Laboratuvarında yapılmıştır. AACC Metod 10-50.05'e göre yapılan bisküvi üretiminin formülasyon bilgisi Tablo 3.2.'de verilmiştir.

Tablo 3.2. Bisküvi üretiminde kullanılan formülasyon (AACC, 2000)

Bileşen	Miktar (gram)
Şortening	64.0
Pudra Şekeri	130.0
Tuz	2.1
Sodyum Bikarbonat	2.5
Dekstroz Çözeltisi	33
Destile Su(Unun nem içeriğine göre AACC Metod 10-50.05'de verilen çizelgeye göre eklenmiştir)	16.0
Bisküvilik Un (%14 nem esasına göre)	225

Bisküvi üretiminde; bitkisel yağ, pudra şekeri, sodyum bikarbonat ve tuz Hobart N-50 miksere koyulup düşük hızda 3 dakika karıştırılmıştır. Her 1 dakika sonunda mikser durdurulmuş ve mikser kenarına yapışanlar spatula ile mikserin içerisine sıyrılmıştır. Karışıma mısır şurubu ve destile su eklenmiş 1 dakika daha düşük hızda karıştırılmıştır. Daha sonra hazırlanan hamur çeşidindeki RRSU oranına göre buğday ununa RRSU eklenerek düşük hızda 2 dakika karıştırılmıştır. İşlem sonunda mikserin kenarları spatula ile sıyrılmıştır. Yoğurma işlemi tamamlanan hamur oklava yardımıyla açılıp 6 mm kalınlığında inceltilip hamur kalınlığı kumpas ile ölçülmüştür. Açılan hamur iç çapı 60 mm olan kesme aparatı ile yuvarlak biçimde kesilmiştir. Yuvarlak kesilmiş bisküviler yağlı kağıt serilmiş olan fırın tepsisine eşit aralıklar olacak şekilde yerleştirilmiştir. Hazırlanan hamurlar deneme planında verilen sıcaklıklara göre 10 dakika pişirilmiştir. Pişirilen bisküviler oda sıcaklığında yarım saat soğumaya bırakılmıştır. Bisküvi üretimi esnasında bisküvilerde çap, kalınlık, yayılma derecesi, ağırlık ölçümleri ve renk ölçüm analizleri yapılmıştır. Üretimden artan hamur ve üretimi tamamlanan bisküviler kalitatif-kantitaf GDO analizleri yapılmak üzere kilitli buzdolabı poşetlerine koyularak -20°C'de muhafaza edilmişlerdir.

3.4.3. Analiz Metodları

3.4.3.1. Bisküvilerde Çap, Yükseklik ve Yayılma Oranı

Hazırlanan hamurlar oklava yardımıyla 6 mm kalınlıkta açılmıştır. Bisküvi hamurlarının eşit kalınlıkta olması için açılan hamurlar dijital kumpas ile 6 farklı noktadan ölçülmüştür. Pişirilen bisküviler, pişirme sıcaklığının ve bisküvi formülasyonuna eklenen RRSU miktarının çap-yükseklik-yayılma oranı ölçümlerine etkisinin analizi için 6 farklı noktadan) çap ve yükseklik ölçümleri yapılmıştır (AACC, 2000).

3.4.3.2. Bisküvilerde Pişirme Kaybı Analizi

Pişmek üzere hazırlanan (kesme aparatı ile kesilmiş) hamurların ve pişirilmiş bisküvilerin pişirme kaybı analizinin yapılabilmesi için hassas terazi ile her bir bisküvi çeşidinden (pişirilip oda sıcaklığında yaklaşık 1 saat soğutulduktan sonra) 6 farklı ölçüm yapılmıştır. Hamur ağırlığının pişirilen bisküvi ağırlığından çıkartılması ve yüz ile çarpılarak pişme kaybı değerleri hesaplanmış ve % olarak ifade edilmiştir.

3.4.3.3. Bisküvilerde Renk Analizi

Hazırlanan hamur ve pişmiş bisküvilerde renk ölçümü Minolta CR-410, (Minolta Co Ltd., Tokyo, Japonya) ile yapılmıştır. Numunelerde üç farklı bölgeden renç ölçüm cihazı ile ölçüm yapılmış ve renk bileşenleri Hunter L, a ve b değerleri tespit edilmiştir. Renk skalası; L* değeri [(0)Siyah – (100) Beyaz], a* değeri [(+) kırmızı, (-) yeşil] ve b* değeri [(+) sarı, (-) mavi] olarak kullanılmıştır.

3.4.3.4. Hamur, Sertifikalı Referans Materyaller ve Bisküvilerden DNA İzolasyonu

Hazırlanan hamur ve bisküvilerdenkalitatif ve kantitatif GDO analizi yapılabilmesi için öncelikli olarak DNA izolasyonu yapılmıştır. Bu amaçla Roche High Pure DNA İzolasyon Kit ve QIAGEN DNA İzolasyon Kit'i kullanılmıştır. İzolasyon işleminin doğru yapılabilmesi için hazırlanan hamurlar iyice yoğurularak, bisküviler ise bir havan yardımıyla öğütülüp karıştırılarak örnek alınmıştır.

Roche High Pure DNA İzolasyon Kit Prosedürü

Homojen hale getirilmiş örneklerden 20 mg alınarak 2 mL'lik steril bir reaksiyon tüpüne aktarılmıştır. Örneğin üzerine 200 µl Liziz Buffer eklenip düşük hızda

vortekslenmiştir ve 1 saat 56°C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan alınan örneğin üzerine 40 µl Proteinaz K enzimi eklenip vortekslenmiştir ve tekrar 1 saat 56°C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan alınan örneğin üzerine 200 µl Binding Buffer eklenip vortekslenerek 10 dakika 72°C'de tekrar inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan alınan örneğin üzerine 100 µl İzopropanol eklenip düşük hızda vortekslenmiştir. Ependorf tüpteki örnek pipet yardımıyla filtreli kolon tüpe aktarılmıştır 8000 G'de 1,5 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüjden alınan örneğin filtre kısmı yeni kolon tüpe yerleştirilmiştir ve üzerine 500 µl inhibitör Removel Buffer eklenip 8000 G'de 1,5 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonunda kolon tüpe geçen sıvı dökülüp, örnek üzerine 500 µl Wash Buffer eklenip 8000 G'de 1,5 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüjden alınan örneğin kolon tüpüne geçen sıvı tekrar dökülüp örnek üzerine tekrar 500 µl Wash Buffer eklenip 8000 G'de 1,5 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüjden alınan örneğin kolon tüpleri yenileri ile değiştirilip 13000 G'de 20 saniye santrifüjlenmiştir. Santrifüjden alınan filtre tüp içindeki örnekler reaksiyon tüplerine yerleştirilmiştir ve üzerine 70°C'de ısıtımış olan Elution Buffer eklenerek 8000 G'de 1,5 dakika santrifüjlenmiştir. Son işlem ile birlikte izolasyonu yapılan örnek reaksiyon tüpüne aktarılmıştır ve izolasyon işlemi tamamlanmıştır.

Qıagen DNA İzolasyon Kit Prosedürü

Homojen hale getirilmiş örneklerden 100 mg steril reaksiyon tüp içine tartılmıştır. Reaksiyon tüp içindeki örnekler üzerine 600 µl Liziz buffer eklenip düşük hızda vortekslenip oda sıcaklığında 1 saat bekletilmiştir. 1 saat sonunda örnek tüpü vortekslenip homojenliği sağlandıktan sonra örnek üzerine 4 µl RNase enzimi eklenip vortekslenmiştir. Vortekslenen örnek 65°C'de 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan alınan örnek tüpüne buz üzerinde 130 µl P3 buffer eklenip 5 dakika boyunca bekletilmiştir. Buz üzerinden alınan örnek tüpü 14000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüjden alınan örnek tüpündeki süpernata kısmı kolon tüpe aktarılmıştır. Kolon tüpe aktarılan süpernata örnek 14000 rpm'de 2 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüjden alınan kolon tüpteki filtre kısmı atılıp altta kalan sıvı kısmın üzerine 675 µl AW1 Wash buffer eklenmiştir. Oluşturulan bu karışım yeni filtreli kolon tüplere 2 seferde aktarılmıştır. Sıvı kısmın yarısı yeni filtreli kolona alınıp 8000 rpm'de 1 dakika santrifüjlenip diğer yarısı yine filtreli kolon tüp üzerine aktarılıp 8000 rpm'de tekrar santrifüjlenmiştir. Santrifüjden alınan örneğin bulunduğu filtreli tüpün kolon kısmı atılıp filtre kısmı yeni kolon tüplere

yerleştirilmiştir. Yeni filtreli kolon tüpteki örnek üzerine 500 µl AW2 buffer eklenip 8000 rpm'de 1 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonunda kolon tüpe geçen sıvı kısım dökülmüş, örnek üzerine tekrar 500 µl AW2 buffer eklenerek 14000 rpm'de 2 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüjden alınan filtreli kolon tüplerin kolon kısımları atılıp filtre kısımları yeni reaksiyon tüplerine yerleştirilmiştir. Reaksiyon tüp içine yerleştirilen filtre tüplerinin üzerine 50 µl Elution buffer eklenip 5 dakika oda sıcaklığında bekletilip 8000 rpm'de 1 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüjden alınan örnek üzerine 50 µl daha Elution buffer eklenerek 8000 rpm'de 1 dakika daha santrifüjlenmiştir. Son işlemden sonra reaksiyon tüp içindeki filtre kısımları atılmıştır, böylece örnek reaksiyon tüpüne aktarılmıştır.

3.4.3.5. DNA Konsantrasyonun Saptanması

Örneklerdeki DNA saflığının kontrolü ve miktar tayini spektrofotometrik yöntemle yapılmıştır. Bu amaçla izolasyonu tamamlanan örneklerin Nanodrop Spektrofotometre cihazı ile DNA saflık ve miktarları ölçülmüştür. Ölçülmek istenilen örnekler kısa bir şekilde santrifuj edilmiştir. Daha sonra Nanodrop spektrofotometreye 1 µl DNA rehydration solisyonundan eklenmiştir. Ardından temizlenen pedestala 1 µl daha DNA rehydration solisyonu daha konularak kör oluşturulmuştur. Her bir örnekten 2 µl alınarak pedestale yerleştirilmiş ve ölçüm yapılmıştır.

Örneklerde 260 nm ve 280 nm'de ölçümler yapılmıştır. A_{260}/A_{280} oranı cihaz tarafından hesaplanarak örnek saflığı hesaplanmıştır. İdeal oran 1.8'dir. Oran 2.0'dan büyük ise RNA kontaminasyonunu gösterirken, 1.6'dan küçük ise protein kontaminasyonu varlığına işaret etmektedir. DNA konsantrasyonu yine cihaz tarafından ng/µL olarak hesaplanmıştır (Somma, 2003).

3.4.3.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)'nda Light Cycler 480II (Roche) kullanılmıştır. Bir örnek için reaksiyon karışımı ve kullanılan hedef DNA miktarları saptanmak istenen bölgelere göre değişiklik göstermektedir. Herhangi bir bulaşmayı saptamak üzere bir kuyucuğa hedef DNA yerine steril deiyonize su eklenmiştir. Primer ve prob seçimi GD ürünlere transfer edilen yabancı genlere göre yapılmıştır.

Real-time PCR'da Tarama

Real-time PCR (Light Cycler 480II, Roche) ile bitki geni, bitki spesifik (lektin) geni, 35S promotör bölge ve RR soya gen taraması yapılmıştır. Bu bölgelerin taranmasında firmadan (Roche) taranan bölgeye özgü primerler, problar, GD pozitif bitki DNA'sı steril deiyonize su temin edilmiştir. GDO taramasında kullanılacak PCR karışımıtaranacak bölgeye göre Tablo 3.3.'e göre hazırlanır. PCR karışımı çalışılacak örnek sayısına göre reaksiyon tüpü içerisine hazırlanır. Pozitif kontrol için firmadan sağlanan pozitif soya bitki DNA'sı ve çeşitli oranlarda CRM (%0, %0.1, %1 RR soya)' ler, negatif kontrol için ise yine firmadan (Roche) sağlanan steril deiyonize su kullanılmıştır. Reaksiyon tüp içerisine hazırlanan PCR karışımı düşük devirde (1500-2000 rpm) kısa süreli (30sn-1dk) santrifüjlendikten sonra 96 kuyucuklu PCR plakasının her bir kuyucuğuna 15 µl PCR karışımı 5 µl örnek izole DNA eklenir. Hazırlanan PCR plakası plaka santrifüjünde kısa süreli (10sn) 3000 rpm'de karıştırılır. PCR işlemine hazırlanan plaka Light Cycler 480II (Roche) cihazına yerleştirilir. Tablo 3.5.'daki PCR programda cihaz çalıştırılır.

Tablo 3.3. 96 kuyucuklu PCR plakasının her bir kuyucuğuna koyulan karışım miktarları

Bileşen	Hacim µl
Prob master (35S, bitki spesifik geni(lektin),veya bitki genine özgü)	10
H2O	3
Ppmix (35S, bitki spesifik geni (lektin),veya bitki genine özgü)	2
Örnek DNA	5

PCR'da kullanılan ppmix karşımı ise Tablo 3.4.'deki miktarlara göre hazırlanır.

Tablo 3.4. PPmix hazırlamada kullanılan malzemeler ve miktarları

Bileşen	Hacim µl
H2O	14.5
Gene özgü forward primer	0.2
Gene özgü revers primer	0.2
Gene özgü prob	0.15

Tablo 3.5. 35S promotör, bitki geni ve bitki spesifik geni (lektin) varlığının araştırılmasında Real-time PCR yönteminde kullanılan PCR programı

Program: Ön İnkübasyon Mode: None		Cycle:1		Analysis
Segmet	Target Tempreture °C	Incubation Time (sn)	Temperature Transition Rate (°C/sn)	Acquisition mode
1	95	900	20	None
Program : Amplifikasyon Mode: Quantification		Cycle : 45		Analysis
Segmet	Target Tempreture °C	Incubation Time (sn)	Temperature Transition Rate (°C/sn)	Acquisition mode
1	95	0	20	None
2	60	25	20	Single
3	72	15	20	None
Program : Cooling Mode: None		Cycle : 1		Analysis
Segmet	Target Tempreture °C	Incubation Time (sn)	Temperature Transition Rate (°C/sn)	Acquisition mode
1	40	30	20	None

Bitki Geni Taraması

Çalışmamızda yapılan GDO tarama analizlerinde doğru sonuç elde edebilmek için örneklerde öncelikli olarak bitki geni taraması yapılmıştır. Bitki geni taraması ile Real-time PCR'da sonuç verebilecek kalitede bitki DNA'sı olup olmadığı saptanmıştır. DNA izolasyonu yapılan örnekler Tablo 3.3 ve Tablo 3.4'deki verilere göre hazırlanan örnekler Tablo 3.5.'deki PCR programına tabi tutulmuştur. PCR plakası Real-time PCR Tarama bölümünde anlatıldığı gibi hazırlanmıştır. Spesifik gen taramasında kullanılan PCR karışımı ve PPmix için gerekli olan bitki spesifik genine özgü primer ve problara ait baz dizileri Tablo 3.6'da verilmiştir.

Tablo 3.6. Bitki spesifik gen bölgesi tespitinde kullanılan primer ve problar

Primer-Prob Çeşiti	Baz Dizilimi	Primer Uzunluğu
Plant Forward	CGAAATGGTAGACGCTACG	19
Plant Revers	CCATTGAGTCTCTGCACCTATC	22
PlantProb	Fam-TCCAAATTCAGAGAAACCCT-Tamra	20

Bitki Spesifik (Lektin) Geni Taraması

Çalışmada hazırlanan hamur ve bisküvilerde soya olduğunun belirlenmesi amacıyla soyaya özgü bir gen olan lektin geni taraması yapılmıştır. DNA İzolasyonu bölümünde anlatılan izolasyon basamaklarına göre izole edilen örnekler Tablo 3.3 ve Tablo 3.4'deki verilere göre PCR plakası Real-time PCR Tarama bölümünde anlatıldığı gibi hazırlanmıştır. Tablo 3.5'deki PCR programına tabi tutulmuştur. PCR karışımı ve PPmix hazırlama da kullanılan lektin genine özgü primer ve problar Tablo 3.7' de verilmiştir.

Tablo 3.7. Bitki spesifik (lektin) geni tespitinde kullanılan primer ve problar

Primer-Prob Çeşiti	Gen Dizilimi	Primer Uzunluğu
Le1_Forward	CCAGCTTCGCCGCTTCCTTC	20
Le1_Reverse	GAAGGCAAGCCCATCTGCAAGCC	23
Le1_Prob	5'-Fam-CTTCACCTTCTATGCCCCTGACAC-Tamra-3'	24

35S Promotör Bölge Taraması

Hazırlanan hamur ve bisküvi örneklerinde genetik modifikasyonun saptanması amacıyla 35S promotör bölge taraması yapılmıştır. DNA İzolasyonu bölümünde anlatılan izolasyon basamaklarına göre izole edilen örnekler Tablo 3.3 ve Tablo 3.4' deki verilere göre Real-time PCR Tarama bölümünde anlatıldığı gibi hazırlanan PCR plakası Çizelge 3.5'deki PCR programına tabi tutulmuştur. PCR karışımı ve PPmix hazırlama da kullanılan 35S promotör bölgesine özgü primer ve problar Tablo 3.8'de verilmiştir.

Tablo 3.8. 35S promotör bölgesi tespitinde kullanılan primer ve problar

Primer-Prob Çeşiti	Gen Dizilimi	Primer Uzunluğu
P35SCForward	GCTCCTACAAATGCCATCA	19
P35SCReverse	CTCCAAATGAAATGAACTTCC	21
CaMV_P35SProb	5'-Fam-CAAAGATGGACCCCCACCCACG-Tamra-3'	22

Real-time PCR'da Roundup Ready Relatif Miktar Analizi

Hazırlanan hamur ve bisküvi örneklerinde genetik modifiye Roundup Ready soya miktar analizi yapılmıştır. DNA İzolasyonu bölümünde anlatılan izolasyon basamaklarına göre izole edilen örnekler Tablo 3.3 ve Tablo 3.4'deki verilere göre Real-time PCR Tarama bölümünde anlatıldığı gibi hazırlanan PCR plakası Tablo 3.5'deki PCR programına tabi tutulmuştur. PCR karışımı ve PPmix hazırlama da kullanılan Roundup Ready'ye özgü primer ve problar Tablo 3.9'de verilmiştir.

Bir örneğin relatif GDO içeriğinin saptanması, örneğin crossing point değerine ve PCR'ın etkinliğine bağlıdır. Crossing point (CP) degeri PCR amlifikasyonunun eksponansiyel faza başladığı döngü sayısıdır. PCR'ın verimliligi (efficiency) ise reaksiyon sırasındaki kinetikleri belirtir. Tüm reaksiyonun etkinliği ise kalibrasyon kurvesinin eğimi (slope) olarak ifade edilir. Kullanılan hibridizasyon probları ve primerler, hem Roundup Ready genine hem de referans gene spesifik PCR verimliliklerine sahip olduklarından, kalibrasyon eğrileri ayrı olarak verilmelidir.

Çalışmamızda % GDO miktarı Roundup Ready geni kopya sayısı/referans bitki geni kopya sayısına oranlanması ile bulunmuştur. Miktar analizi hesaplamaları firma (Roche) tarafından yapılmıştır.

Tablo 3.9. Roundup-ready soya tespitinde kullanılan primer ve problar

Primer-Prob Çeşiti	Gen Dizilimi	Primer Uzunluğu
RuptarF	5’TTCATTCAAAATAAGATCATACATAC AGGTT	31
RuptarR	5’-GGCATTTGTAGGAGCCACCTT	21
RupTPrb	5’-6FAM-C+CT+TT+TC+CA+TT+TGGG-- TMR	15

Tablo 3.10. Roundup-ready soya geni relatif miktar tayininde kullanılan Real-time PCR programı

Program: Ön İnkübasyon		Cycle:1 Mode: None		Analysis
Segmet	Target Tempreture °C	Incubation Time (sn)	Temperature Transition Rate (°C/sn)	Acquisition mode
1	95	900	20	None
Program : Amplifikasyon		Cycle : 45 Mode: Quantification		Analysis
Segmet	Target Tempreture °C	Incubation Time (sn)	Temperature Transition Rate (°C/sn)	Acquisition mode
1	95	0	20	None
2	60	25	20	Single
3	72	15	20	None
Program : Cooling		Cycle : 1 Mode: None		Analysis
Segmet	Target Tempreture °C	Incubation Time (sn)	Temperature Transition Rate (°C/sn)	Acquisition mode
1	40	30	20	None

3.4.3.7. İstatistiksel Analizler

Denemelerde %0, %0.1, %0.5, %0.9, %2, %50, %100 oranında RR soya unu ilave edilerek üretilen bisküvilerin değerlendirilmesinde yapılan fiziksel analizlere (yayılma oranı, pişirme kaybı, renk analizleri) dair elde edilen verilerin varyans analizleri ve bisküvilerde yapılan GDO analizlerinden elde edilen verilerin analizleri SPSS 22.0 programı Duncan çoklu karşılaştırma testine göre yapılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Bisküvilerin Çap, Yükseklik, Yayılma Oranı ve Pişirme Kaybı Değerleri

Farklı oranlarda RRSU içeren ve farklı sıcaklıklarda pişirilmiş bisküvilerin çap, yükseklik, yayılma oranı ve pişime kaybı (%) değerleri Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Farklı oranlarda RRSU içeren ve farklı sıcaklıklarda pişirilmiş bisküvilerin çap, yükseklik, yayılma oranı ve pişime kaybı (%) değerleri

RRSU[1] ilave oranı (%)	Pişirme Sıcaklığı	Çap (mm)	Yükseklik (mm)	Yayılma Oranı (Çap/yükseklik)	Pişirme kaybı (%)
0	190	73.32 ± 0.08^{2def}	7.88 ± 0.23^{cdef}	9.31 ± 0.28^{bcd}	6.53 ± 0.06^{def}
0.1	190	72.31 ± 0.06^{f}	7.83 ± 0.01^{cdef}	9.23 ± 0.00^{bcd}	6.42 ± 0.23^{def}
0.5	190	74.84 ± 0.02^{bc}	7.98 ± 0.38^{bcde}	9.40 ± 0.44^{bcd}	6.07 ± 0.56^{efg}
0.9	190	73.35 ± 0.58^{def}	7.72 ± 0.41^{def}	9.52 ± 0.43^{b}	4.27 ± 0.42^{g}
2.0	190	76.06 ± 0.8^{a}	7.32 ± 0.20^{f}	10.40 ± 0.17^{a}	5.74 ± 0.02^{efg}
50	190	67.08 ± 0.63^{h}	8.54 ± 0.08^{b}	7.86 ± 0.14^{e}	6.72 ± 2.3^{cdef}
100	190	60.00 ± 0.48^{ı}	8.23 ± 0.25^{bcd}	7.30 ± 0.28^{ef}	6.31 ± 0.59^{def}
0	200	72.92 ± 0.33^{ef}	8.34 ± 0.23^{bcd}	8.75 ± 0.28^{d}	8.12 ± 0.10^{bcd}
0.1	200	72.46 ± 0.10^{f}	7.84 ± 0.02^{cdef}	9.24 ± 0.01^{bcd}	6.78 ± 0.09^{cdef}
0.5	200	75.04 ± 0.30^{ab}	8.04 ± 0.58^{bcd}	9.36 ± 0.64^{bcd}	6.96 ± 0.09^{bcdef}
0.9	200	74.48 ± 0.71^{bcd}	7.37 ± 0.42^{ef}	10.13 ± 0.67^{a}	7.06 ± 0.52^{bcdef}
2.0	200	73.42 ± 2.21^{def}	7.75 ± 0.15^{def}	9.47 ± 0.10^{bc}	5.21 ± 0.43^{fg}
50	200	68.15 ± 0.26^{gh}	9.51 ± 0.49^{a}	7.18 ± 0.34^{f}	6.29 ± 0.95^{def}
100	200	60.18 ± 0.59^{ı}	8.40 ± 0.34^{bc}	7.17 ± 0.22^{f}	7.21 ± 0.26^{bcdef}
0	210	73.76 ± 0.10^{cde}	8.38 ± 0.23^{bc}	8.80 ± 0.25^{cd}	11.40 ± 3.43^{a}
0.1	210	72.19 ± 0.32^{f}	7.87 ± 0.09^{cdef}	9.17 ± 0.15^{bcd}	8.25 ± 1.08^{bcd}
0.5	210	74.22 ± 0.04^{bcd}	8.29 ± 0.06^{bcd}	8.95 ± 0.07^{bcd}	8.13 ± 0.50^{bcd}
0.9	210	74.56 ± 0.50^{bcd}	8.14 ± 0.23^{bcd}	9.16 ± 0.31^{bcd}	8.78 ± 0.10^{b}
2.0	210	75.22 ± 0.61^{ab}	8.21 ± 0.73^{bcd}	9.22 ± 0.89^{bcd}	7.32 ± 0.9^{bcde}
50	210	68.44 ± 0.87^{g}	9.78 ± 0.15^{a}	7 ± 0.01^{f}	6.90 ± 0.39^{bcdef}
100	210	59.08 ± 0.76^{ı}	8.47 ± 0.33^{bc}	6.98 ± 0.18^{f}	8.61 ± 0.08^{bc}

[1]: RRSU: Roundup Ready Soya Unu
[2]: Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark yoktur ($p<0,05$).

Yapılan çalışmaların sonuçları incelendiğinde bisküvi hamuruna soya unu ilavesinin bisküvilerin fiziksel özelliklerini geliştirdiği görülmüştür. Çalışmamızdaki bisküvilerin çap analizi sonuçları incelendiğinde hamura eklenen % RRSU miktarı ya da pişirme sıcaklığı arttıkça çap ölçülerinde doğrusal bir artış ya da azalış gözlenmemiştir. Ancak %50 ve %100 RRSU içeren bisküviler her üç pişirme sıcaklığında da kontrol örneği ile karşılaştırıldığında çap değerlerinde önemli düzeyde bir azalma göstermiştir. %100 RRSU eklenerek pişirilen bisküvilerin 190, 200 ve 210°C'de pişirilme sonuçları incelendiğinde diğer örneklere göre en düşük çap ölçüsüne, %2 RRSU eklenerek 190°C' de pişirilen örnekte ise en yüksek çap değerine sahip olduğu görülmüştür. %50 RRSU eklenerek pişirilen bisküvilerin çap analizi sonuçları incelendiğinde %100 RRSU eklenerek hazırlanan bisküvi sonuçlarına yakın olduğu diğer örneklerin sonuçlarından ise düşük olduğu görülmüştür. %0.1 RRSU eklenerek hazırlanan bisküvilerin çap analizi sonuçları ise pişirilen sıcaklık ile değişmediği her 3 sıcaklıkta da aynı sonucun alındığı görülmektedir.

Bisküvilerin yükseklik analiz sonuçları incelendiğinde bisküvi içeriğinde RRSU arttıkça yükseklik sonuçlarında doğrusal bir artış ya da azalış olmadığı görülmektedir. Yükseklik analizlerinde her üç sıcaklık derecesinde de %50 RRSU ilavesi ile yükseklik parametresinde en yüksek değere ulaşılmıştır. Bununla birlikte %100 RRSU ilavesi ile üretilen bisküvilerde yükseklik değeri tekrar azalma göstermiştir. Bisküvi örneklerinde en düşük yükseklik sonucu ise %2 RRSU içeren 190°C'de pişirilen örnekte ölçülmüştür. 210°C' de pişirilen bisküvilerden %0.5, %0.9 ve %2 RRSU katkılı örnek sonuçları incelendiğinde bisküvi içerisindeki RRSU miktarının orantısal olarak sonuçlara yansımadığı görülmektedir.

Bisküvilerde yayılma oranı, çap/yükseklik formülü ile hesaplanmaktadır. Bisküvilerin analiz sonuçları incelendiğinde pişirme derecesi arttıkça yayılma oranında genel bir azalma görülmektedir. 190°C'de pişirilen örnekler incelendiğinde yayılma oranı %0.9 RRSU ilave seviyesine kadar istatistiksel olarak bir fark oluşturmamış, %2 RRSU ilave oranında ise aynı çap değerinde olduğu gibi önemli bir artış gözlenmiştir. RRSU ilave düzeyi sırasıyla %50 ve %100'e yükseltildiği zaman yayılma oranlarında doğrusal bir azalma saptanmıştır. 200°C'de pişirilen örnekler incelendiğinde %0.9 düzeyinde RRSU eklenen örnekte en yüksek yayılma oranı belirlenirken, 200°C'de %50 ve %100 düzeyinde RRSU eklenen örnekler en düşük yayılma oranlarına sahip olmuşlardır. 210°C' de pişirilen örnekler incelendiğinde %2 oranında RRSU ekleme düzeyine kadar olan örneklerde istatistiksel olarak bir fark görülmemiştir. 190 ve 200°C'de pişirilen örnekler gibi

210°C'de pişirilen örnekler de %50 ve %100 RRSU ilave edilen örnekler en düşük yayılma oranına sahip olmuşlardır.

Bisküvi hamuruna eklenen RRSU miktarı arttıkça yayılma oranında orantısal bir artış ya da azalma olmamakla birlikte %50 ve %100 RRSU eklenen bisküvi örneklerinin en az yayılma oranına sahip oldukları bu sonuçların çap ve yükseklik analizleri ile de bağdaştığı görülmektedir. Bisküvi hamuruna eklenen düşük miktardaki RRSU miktarının yayılma oranına etkisinin olmadığını 210°C'de pişirilen %0.1, %0.5, %0.9 ve %2 RRSU katkılı örneklerin sonuçlarının benzer çıkmasından da anlaşılabilmektedir.

Gürsu vd. (1997), bisküvi zenginleştirme çalışmasında yağlı ve yağsız soya ununu %2, % 4, %6 ve %10 oranında bisküvi formülasyonuna ekleyerek fiziksel özelliklerine ve raf ömrü süresine etkisini incelemişlerdir. Bisküvi hamurundaki soya unu miktarı arttıkça çap ve yükseklik azalmış yayılma oranı ise artış göstermiştir. Alem Zaker vd. (2012), bisküvi formülasyonuna %0 , %10, %20 ve %30 oranında yağsız soya unu ekleyerek bisküvi hazırlamışlardır. Bisküvi formülasyonuna ilave edilen soya unu miktarı arttıkça fiziksel özelliklerinden çap, yayılma oranı ve kırılganlık değerleri azalırken kalınlık (yükseklik) değerleri artmıştır

Bisküvilerin pişirme kaybı sonuçları incelendiğinde pişirme derecesi arttıkça pişirme kaybının arttığı görülmektedir. En yüksek pişirme kaybı 210°C'de pişirilen %0 RRSU katkılı örnek, en düşük pişirme kaybının ise 190°C'de pişirilen %0.9 RRSU katkılı örnek olması ise bu sonucu desteklemektedir. Sonuçlar incelendiğinde bisküvi hamuruna eklenen RRSU miktarının pişirme kaybına orantısal bir etkisinin olmadığı görülmektedir.

Alem Zaker vd. (2012)'nin yaptığı çalışmada besinsel özelliklerden kül, nem, protein ve ham lif değerleri artış göstermiş yağ, karbonhidrat ve enerji değerlerinde azalma görülmüştür. Hazırlanan bisküviler fiziksel, duyusal ve beslenme özellikleri açısından değerlendirilmişlerdir. %20 oranında yağsız soya unu ilave edilerek hazırlanan bisküvilerin diğer çeşitlere oranla daha yüksek genel kabul edilebilirliğe sahip olduğu belirlenmiştir.

4.2. Bisküvilerde Renk Analizi Sonuçları

Çalışmamızda hazırlanan bisküvi örneklerinin renk ölçüm analiz sonuçları Tablo 4.2' de verilmiştir.

Tablo 4.2. Farklı oranlarda RRSU içeren ve farklı sıcaklıklarda pişirilmiş bisküvilerin renk değerleri

RRSU[1] ilave oranı (%)	Pişirme Sıcaklığı	L*	a*	b*
0	190	63.49 ± 0.68^{2a}	3.92 ± 0.43^{g}	20.17 ± 0.12^{a}
0.1	190	59.53 ± 4.4^{b}	5.87 ± 2.08^{f}	19.91 ± 0.04^{ab}
0.5	190	64.81 ± 1.10^{a}	3.07 ± 0.73^{g}	19.86 ± 0.59^{ab}
0.9	190	65.29 ± 0.49^{a}	2.64 ± 0.43^{g}	18.85 ± 0.56^{de}
2.0	190	64.91 ± 1.05^{a}	2.73 ± 0.39^{g}	19.19 ± 0.15^{bc}
50	190	52.44 ± 0.54^{d}	8.24 ± 1.23^{cde}	18.95 ± 1.04^{de}
100	190	45.28 ± 0.88^{ef}	9.64 ± 0.46^{abc}	18.37 ± 0.02^{de}
0	200	56.66 ± 0.54^{bc}	7.91 ± 0.30^{de}	20.31 ± 0.05^{a}
0.1	200	59.28 ± 0.20^{b}	6.11 ± 0.03^{f}	20.26 ± 0.27^{a}
0.5	200	63.35 ± 0.70^{a}	3.96 ± 0.12^{g}	20.22 ± 0.34^{a}
0.9	200	64.14 ± 0.33^{a}	3.42 ± 0.23^{g}	19.79 ± 0.36^{ab}
2.0	200	63.11 ± 2.34^{a}	3.77 ± 1.59^{g}	19.76 ± 0.62^{ab}
50	200	47.20 ± 0.4^{e}	9.96 ± 0.07^{ab}	17.58 ± 0.11^{f}
100	200	43.54 ± 1.14^{fg}	10.27 ± 0.51^{ab}	17.95 ± 0.40^{ef}
0	210	48.13 ± 0.19^{e}	10.28 ± 0.22^{ab}	18.85 ± 0.09^{de}
0.1	210	59.71 ± 3.38^{b}	5.95 ± 2.08^{f}	20.14 ± 0.04^{a}
0.5	210	58.40 ± 3.13^{b}	6.90 ± 1.44^{ef}	20.21 ± 0.13^{a}
0.9	210	54.39 ± 3.02^{cd}	8.88 ± 1.03^{bcd}	19.89 ± 0.41^{ab}
2.0	210	52.57 ± 0.43^{d}	9.43 ± 0.07^{bcd}	19.78 ± 0.29^{ab}
50	210	42.82 ± 0.51^{fg}	10.36 ± 0.36^{ab}	16.43 ± 0.22^{g}
100	210	40.83 ± 1.25^{g}	11.21 ± 0.14^{a}	16.83 ± 0.44^{g}

[1]: RRSU: Roundup Ready Soya Unu
[2]: Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark yoktur ($p<0,05$).

L* değeri sonuçları incelendiğinde pişirme derecesi arttıkça L* değerinin sıfıra yaklaştığı örneklerde siyahlığın arttığı görülmektedir. 190°C'de pişirilen örnekler incelendiğinde bisküvi hamuruna %2 düzeyine kadar RRSU ilave edilmesinin sonuçlarda istatistiksel açıdan bir fark oluşturmadığı görülmüştür. Özellikle kontrol örneğinin diğer örneklerle ve pişirme sıcaklıkları ile karşılaştırıldığında ise 190 ve 200°C'de pişirme yapılmasının L* değeri üzerine anlamlı bir fark oluşturmadığı ancak 210°C sıcaklık uygulamasının daha koyu renkli bisküvi elde edilmesine sebep olmuştur. Genel olarak tüm

örneklerin L* değerleri karşılaştırıldığında %50 ve %100 düzeyinde RRSU ilavesinin bisküvi renklerinin koyulaşmasına sebep olduğu görülmüştür.

Bisküvi örneklerinin renk ölçüm analizleri sonucunda a* değerleri incelendiğinde ise pişirme derecesinin artması ile örnekteki a* değerinin yükseldiği örneklerdeki kırmızılık oranının arttığı görülmektedir. %50 ve %100 RRSU eklenen örneklerin her 3 pişirme sıcaklığında da en yüksek a* değerlerini, en düşük a* değerini ise 190°C'de pişirilen %0.9 ve %2 RRSU eklenen örneklerin aldığı sonuçlarda görülmektedir.

Bisküvi örneklerinin renk ölçüm analizleri sonucunda b* değerleri incelendiğinde bisküvi hamurunda % RRSU miktarı arttıkça b* değerinin yani sarılığın azaldığı görülmektedir. Bisküvi hamuruna düşük miktarda %0, %0.1, %0.5 ve %0.9 gibi RRSU eklemenin sonuçlara etkisinin olmadğı ancak %50 ve %100 RRSU eklenerek yapılan örneklerin sonucu değiştirdiği sarılık değerinin azaldığı görülmektedir. %50 ve %100 RRSU eklenerek hazırlanan bisküvilerin 190, 200, 210°C'de pişirilen örnek sonuçları karşılaştırıldığında pişirme derecesi arttıkça sarılık değerinin belirgin şekilde düştüğü görülmektedir.

4.3. DNA Konsantrasyon Analizi Sonuçları

Konsantre edilmiş, kesilmiş, ısıtılmış, parçalanmış veya patlatılmış gıdalar yarı işlenmiş gıdalar olarak isimlendirilirken çöktürülmüş, kızartılmış veya fermente edilmiş gıdalar ise çok işlenmiş gıdalar olarak isimlendirilmektedir (Pauli vd., 2000; Aydın, 2004). Gıdaların yapısında bulunan DNA'lar işlenme sırasında sıcaklık, düşük pH ve enzimatik reaksiyonlar sebebiyle hidroliz olabilmektedir. Böylelikle, işlenmiş gıdalardan her zaman yüksek molekül ağırlığına sahip yeterli kalite ve miktarda DNA elde edilememektedir (Aydın, 2004). Bauer vd. (2005), genetiği değiştirilmiş patateslerin kurutulmuş patates çubuklarına veya gevreklerine işlenmesi prosesini incelemişlerdir. Kurutma işleminin DNA bozulması üzerinde en etkili proses olduğunu tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda ısıl işlem uygulanmış ve ısıl işlem uygulanmamış örneklerin DNA izolasyonu Roche High Pure DNA İzolasyon Kiti ve Qiagen DNA İzolasyon Kiti olmak üzere 2 farklı yöntem ile yapılmıştır. Tablo 4.3.'de izolasyon analizlerinden bazılarının sonuçlarına yer verilmiştir

Tablo 4.3. Bisküvi örneklerinden bazılarının DNA konsantrasyon ve miktar sonuçları

RRSU[1] ilave oranı (%)	Pişirme Sıcaklığı(°C)	260/280	ng/µl
0	Pişmemiş hamur	0.617	10.866
0.1	Pişmemiş hamur	0.864	11.234
0.5	Pişmemiş hamur	0.988	10.564
0.9	Pişmemiş hamur	1.132	10.267
2.0	Pişmemiş hamur	1.056	13.521
50	Pişmemiş hamur	1.834	14.679
100	Pişmemiş hamur	1.967	11.347
0	190	1.698	13.024
0.1	190	1.875	14.505
0.5	190	1.467	8.306
0.9	190	1.651	11.048
2.0	190	1.551	14.363
50	190	1.787	10.376
100	190	1.821	10.421
0	200	1.731	13.204
0.1	200	1.834	6.033
0.5	200	1.952	11.532
0.9	200	1.897	13.306
2.0	200	1.902	9.449
50	200	1.888	15.31
100	200	1.703	10.003
0	210	1.578	15.664
0.1	210	1.421	10.948
0.5	210	1.882	12.645
0.9	210	1.718	18.029
2.0	210	1.397	13.996
50	210	1.864	10.974
100	210	1.994	17.254

[1]: RRSU: Roundup Ready Soya Unu

İzolasyon sonuçlarının tamamı incelendiğinde ise ticari kitler ile yapılan DNA izolasyonları arasında zaman ve DNA miktarı yönünden önemli bir farklılık olmamasına karşı DNA kalitesi yönünden Qıagen DNA izolasyon kitinin diğer kite göre üstün olduğu

gözlenmiştir. Pişirme işlemine tabi tutulmamış ürünlerden Roche High Pure DNA izolasyon kitiyle yapılan izolasyonda, RRSU içeriği fazla olan örneklerde DNA kalite ve miktar açısından yeterli ürün elde edilirken RRSU içeriği düşük olan örneklerde yeterli kalitede ürün elde edilememiştir. Bu durum Roche High Pure DNA izolasyon kitinin her tahıl ürününden DNA izolasyonu için uygun olmadığını göstermiştir. Qıagen DNA izolasyon kiti ile yapılan izolasyonlarda ise hem pişirilmiş hemde pişmemiş ürünlerde RRSU miktarının DNA miktar ve kalitesini etkilemediği görülmüştür.

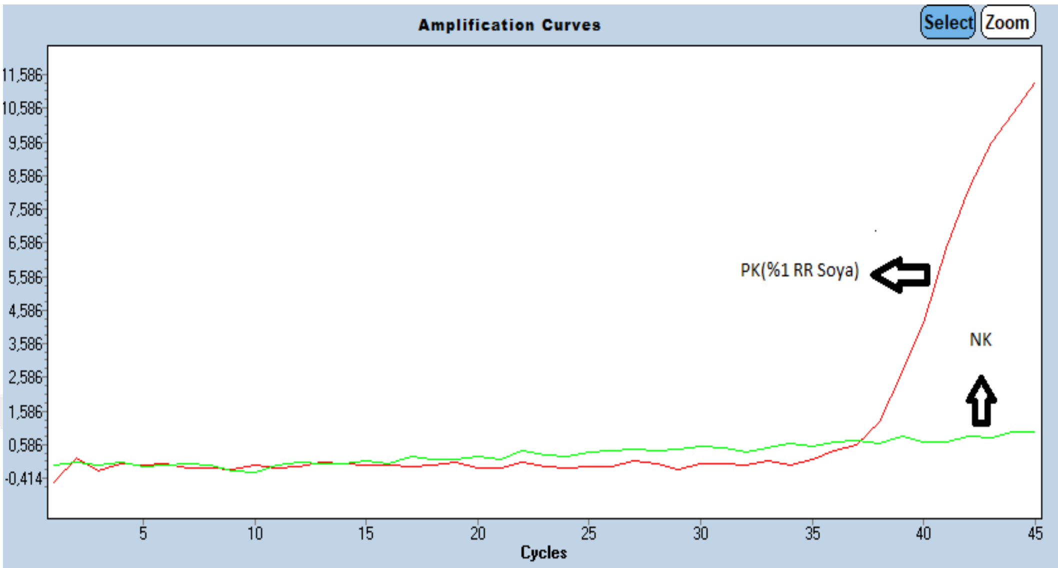
Yapılan izolasyon çalışmasında genel olarak pişirilmiş ürünlerin büyük bir kısmında analiz için yeterli kalite ve miktarda DNA izolasyonu yapılmıştır. Ancak pişirme derecesi arttıkça DNA miktarında değişiklik gözlenmezken DNA kalitesinde önemli derecede düşme gözlenmiştir.

4.4. Real-time PCR'da Bitki Geni, Bitki Spesifik (Lektin) Geni ve 35S Promotör Bölge Tarama Sonuçları

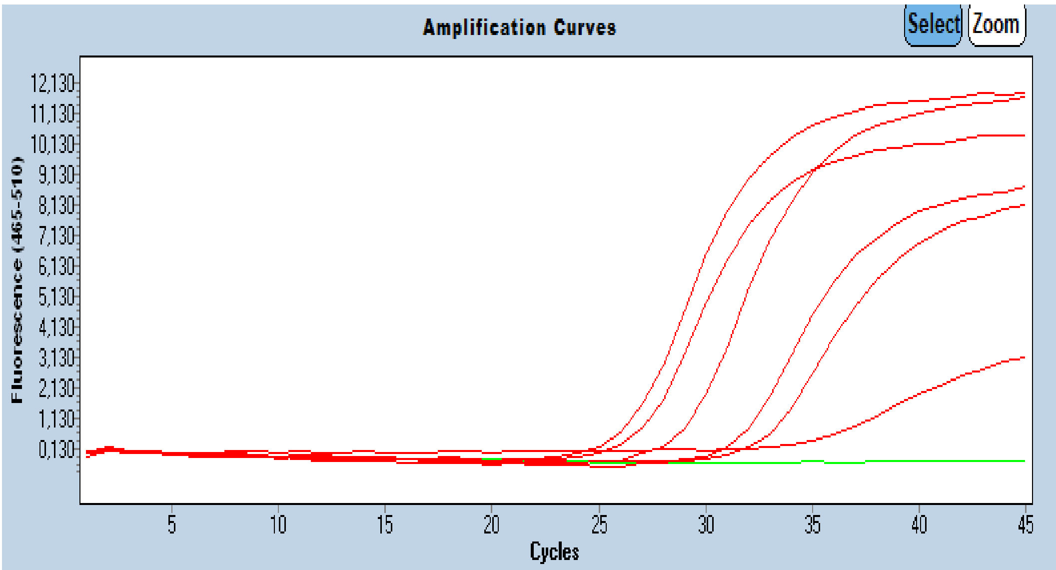
İzolasyonu yapılan örneklerde ilk olarak bitki geni taraması yapılmıştır. Bitki geni araştırılması için uygun primer-prob kullanılarak PCR karışımı hazırlanmıştır. Bitki geni tespiti için PCR sisteminin güvenilir çalışıp çalışmadığını kontrol etmek amacıyla pozitif kontrol olarak standart referans materyal %0 RR soya (ERM®-BF410ap) ve negatif kontrol olarak steril deiyonize su kullanılmıştır. Ürünlerde soya unu varlığını tespit etmek amacıyla ise bitki spesifik (lektin) geni taraması yapılmıştır. Lektin geni taraması için uygun PCR karışımı hazırlanmıştır. Sistemin güvenli çalışıp çalışmadığının kontrolü için pozitif kontrol olarak %1 RR Soya içeren standart referans materyal (ERM®-BF410dp) ve soya içermeyen bir örnek negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Bitki spesifik geni (lektin) bölgesinin taraması için FAM, HEX/Yellow555 kanalları kullanılmıştır. Bitki spesifik geni (lektin) taramasında kullanılan pozitif kontrol ve negatif kontrollere ait PCR görüntüsü Şekil 4.1'te, bitki spesifik (lektin) geni taramasında kullanılan pozitif ve negatif örneklerden bazılarının PCR görüntüleri ise Şekil 4.2' te verilmiştir.

Bitki geni taramasında pozitif sonuç veren örneklerde btiki spesifik geni olan lektin geni ve 35S promotör bölge taramasına devam edilmiştir. PCR sisteminin güvenilir çalışıp çalışmadığını kontrol etmek amacıyla pozitif kontrol olarakstandart referans materyal %1 RR soya (ERM®-410dp) ve negatif kontrol olarak steril deiyonize su kullanılmıştır. Negatif sonuç veren örneklerde ise izolasyon işlemi tekrarlanmıştır. Bitki geni bölgesinin taraması için FAM, HEX/Yellow555 kanalları kullanılmıştır. Bitki geni taramasında

kullanılan pozitif kontrol ve negatif kontrollere ait PCR görüntüsü Şekil 4.3'te, Bitki geni taraması sonucunda pozitif ve negatif sonuç veren örneklerden bazılarının PCR görüntüleri ise Şekil 4.4.'te verilmiştir.

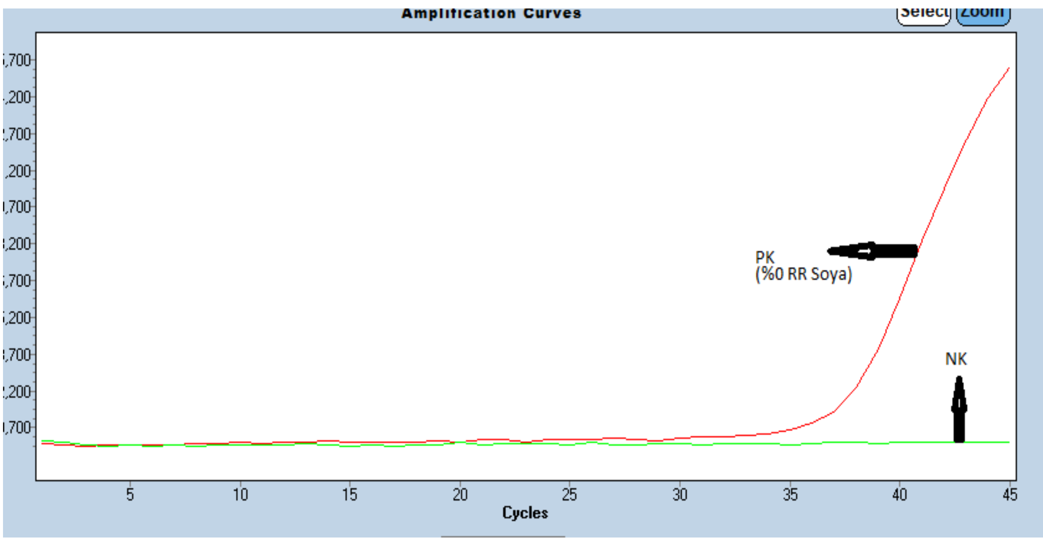


Şekil 4.1. Bitki spesifik (lektin) geni taramasında kullanılan pozitif kontrol ve negatif kontrole ait PCR görüntüleri (PK:referans materyal %1 RR Soya, NK:steril deiyonize su)



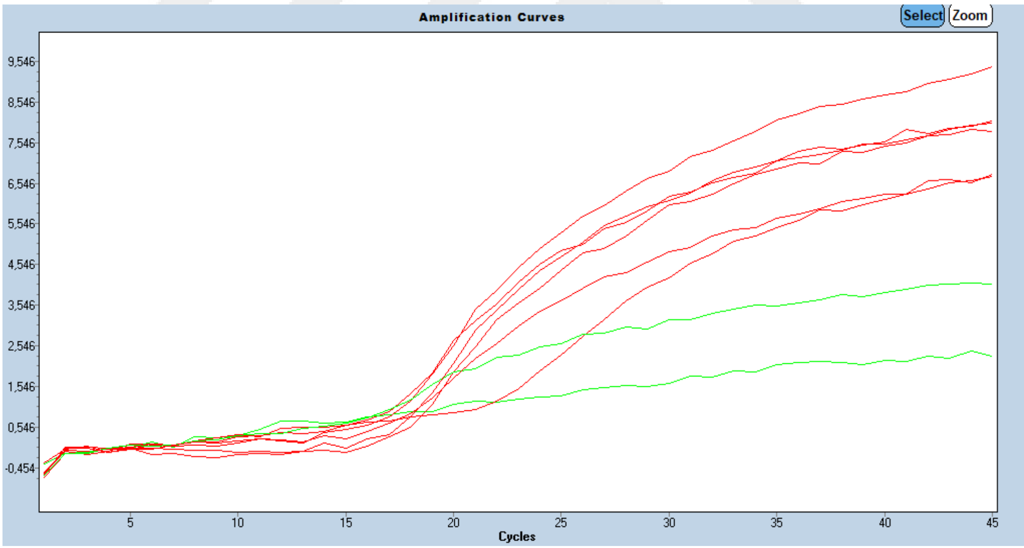
Şekil 4.2. Bitki spesifik (lektin) geni taramasında tespit edilen 190°C'de pişirilmiş örneklere ait PCR görüntüleri

(kırmızı renkli grafikler soldan sağa doğru %100, % 100, %50, %2, %0.5, %0.1 oranında RRSU içeren bisküvilerin 190 °C'de pişirilmiş örneklerine, yeşil renkli grafik ise %0 RRSU içeren 190°C'de pişirilmiş örneğe aittir)



Şekil 4.3. Bitki geni taramasında kullanılan pozitif ve negatif kontrol örneklerinin PCR görüntüleri

(PK:referans materyal %0 RR soya, NK:steril deiyonize su)

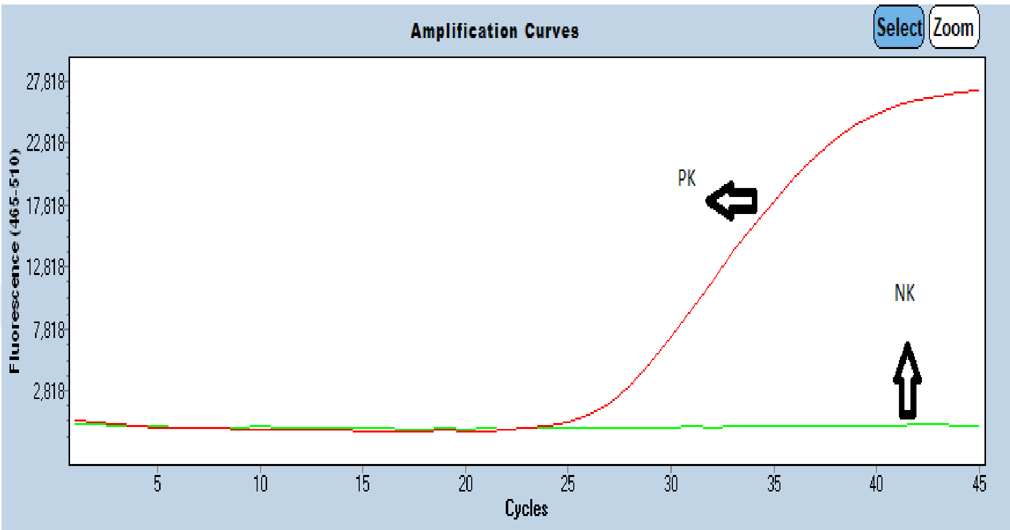


Şekil 4.4. Bitki geni taramasında tespit edilen 190 °C' de pişirilmiş örneklere ait PCR görüntüleri

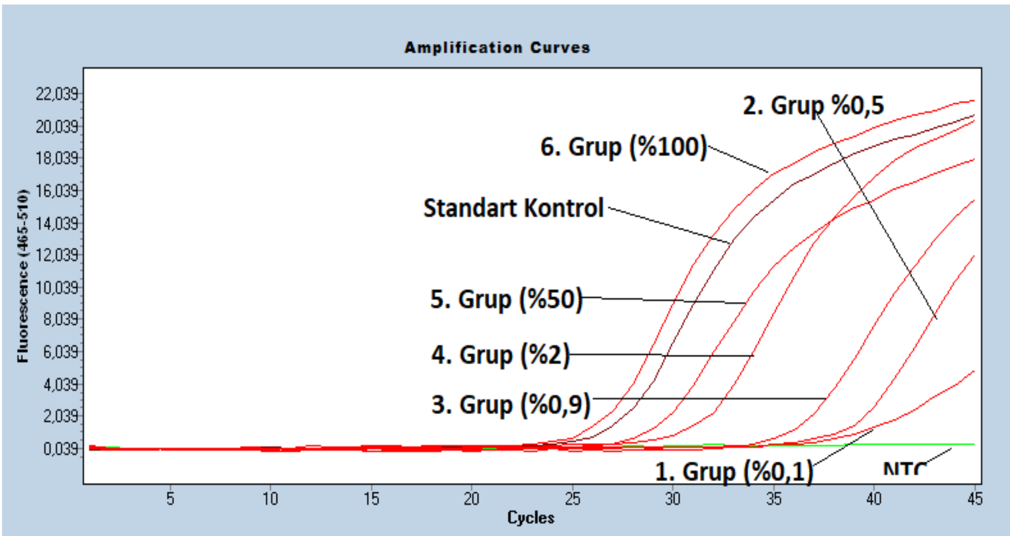
(kırmızı renkli grafikler soldan sağa doğru %100, %100, %50, %2, %0.5, %0.1 oranında RRSU içeren bisküvilerin 190°C'de pişirilmiş örneklerine, yeşil renkli grafik ise %0 RRSU içeren 190°C'de pişirilmiş örneğe aittir)

Ürünlerde genetik değişimin varlığını tespit etmek amacıyla ise 35S promotör bölge taraması yapılmıştır. Sistemin güvenli çalışıp çalışmadığının kontrolü için firma

(Roche) tarafından temin edilen standart materyal %1 RR soya (ERM®-410dp) pozitif kontrol, standart referans materyal %0 RR soya (ERM®-410ap) negatif kontrol olarak kullanılmıştır. 35S promotör bölgesinin taraması için FAM, HEX/Yellow555 kanalları kullanılmıştır. 35S promotör taramasında kullanılan pozitif kontrol ve negatif kontrollere ait PCR görüntüsü Şekil 4.5.'te verilmiştir.



Şekil 4.5. 35S promotör taramasında kullanılan pozitif kontrol ve negatif kontrollere ait PCR görüntüleri (PK: pozitif kontrol, NK: negatif kontrol)



Şekil 4.6. 35S promotör taraması yapılan farklı düzeylerde RRSU içeren 190°C'de pişirilmiş örneklerin PCR görüntüleri (Standart kontrol: pozitif kontrol, NTC: negatif kontrol)

Şekil 4.6.'da 6 farklı düzeyle RRSU içeren örneklerin 190°C'de pişirilmiş bisküvilerin PCR görüntülerinden genel bir şekil oluşturulmuştur. Şekil 4.6. incelendiğinde örneklerin CP noktalarının RRSU içerikleri ile orantılı olduğu görülmektedir. %100 düzeyinden %0.1 düzeyine doğru gidildikçe CP noktası yükselmektedir. CP noktasının yükselmesi örnekteki % RRSU miktarının düştüğünü, çoğaltılabilecek 35S promotör bölgesinin azaldığını göstermektedir.

Crossing Point (CP); PCR amlikasyonunun eksponansiyel faza başladığı döngü sayısıdır. CP>38 olan sonuçlar negatif olarak kabul edilmiştir. Bu değerden daha düşük çıkan CP değerleri pozitif olarak kabul edilmiştir. Çizelgelerde bahsi geçen ilk CP değerleri, Real-time PCR'ın soft-ware'inde otomatik olarak belirlediği base-line'a göre elde edilmiştir. Tablo 4.4.'de hamurların, Tablo 4.5'de ise bisküvi örneklerinde Real-time PCR'da yapılan bitki geni tarama, lektin geni tarama, 35S tarama bölgelerinin CP verileri ve sonuç yorumları verilmiştir.

Tablo 4.4. Hamur örneklerinde Real-time PCR' da yapılan bitki geni tarama, lektin geni tarama, 35S tarama bölgelerinin CP verileri

Örnekler	35S CP değeri	Lektin Geni	Bitki Geni	Tekerrür Sayısı
0	40	-	+	3
0.1	21.94	+	+	3
0.5	21,55	+	+	3
0.9	21.08	+	+	3
2	24.36	+	+	3
50	16.94	+	+	3
100	16.58	+	+	3
PK[1]	26.98	+	+	3
NK[2]	-	-	-	3

[1] PK:Pozitif Kontrol, [2] NK: Negatif Kontrol

Tablo 4.5. Bisküvi örneklerinde Real-time PCR'da yapılan bitki geni tarama, lektin geni tarama, 35S tarama bölgelerinin CP verileri

Örnekler	Pişirme Sıcaklığı °C	35S CP	Lektin Geni	Bitki Geni	Tekerrür Sayısı
0	190	39.22	-	+	3
0.1	190	32.26	+	+	3
0.5	190	28.54	+	+	3
0.9	190	21.57	+	+	3
2	190	19.33	+	+	3
50	190	17.01	+	+	3
100	190	15.16	+	+	3
0	200	23.91	-	+	3
0.1	200	25.62	+	+	3
0.5	200	25.01	+	+	3
0.9	200	25.32	+	+	3
2	200	16.19	+	+	3
50	200	16.05	+	+	3
100	200	16.41	+	+	3
0	210	24.30	-	+	3
0.1	210	24.62	+	+	3
0.5	210	24.91	+	+	3
0.9	210	25.69	+	+	3
2	210	16.98	+	+	3
50	210	18.92	+	+	3
100	210	16.01	+	+	3
%0 RR Soya NK[2]	-	39.01	+	+	3
% 0.1 RR Soya	-	24.00	+	+	3
%1 RR Soya PK[1]	-	16.14	+	+	3

[1] PK:Pozitif Kontrol, [2] NK: Negatif Kontrol

4.5. Real-time PCR'da Roundup-ready Soya Relatif Miktar Analizi Sonuçları

Real-time PCR ile yapılan kantitatif analiz sonuçlarına göre hem hamur hem de bisküvi örneklerinde GDO'lu DNA % olarak tespit edilmiştir. Örneklerdeki lektin geni, RR soya geninin CP değerleri, % GDO oranı Tablo 4.6.'de verilmiştir.

Tablo 4.6. Hamur ve bisküvi örneklerinde saptanan % GDO oranı, RR soya ve lektin geni CP değerleri

RRSU[1] ilave oranı (%)	Pişirme Sıcaklığı	RR Soya Geni CP değerleri	Lektin Geni Cp değerleri	GDO'lu DNA oranı (%)
0	Hamur	40±0.00[2a]	40±0.00[a]	0.00±0.00[d]
0.1	Hamur	38.76±0.71[a]	28.42±4.26[bcd]	0.10±0.00[d]
0.5	Hamur	37.77±0.10[a]	34.99±0.45[ab]	0.48±0.00[d]
0.9	Hamur	30.86±3.03[b]	27.51±3.47[cd]	0.90±0.00[cd]
2.0	Hamur	37.55±0.03[a]	33.70±0.49[abc]	2.21±0.06[c]
50	Hamur	30.32±0.03[b]	26.25±1.75[d]	49.85±1.12[b]
100	Hamur	28.39±0.12[b]	19.27±1.59[e]	102±8.21[a]
0	190	40±0.00[a]	40±0.00[a]	0±0.00[d]
0.1	190	39.20±0.79[ab]	27,86±4.74[def]	0.11±0.01[d]
0.5	190	39.00±0.95[ab]	32.81±0.37[bc]	0.33±0.00[d]
0.9	190	36.86±1.29[cd]	30.92±1.01[bcd]	0.61±0.11[d]
2.0	190	38.22±0.47[abc]	31.94±1.15[bcd]	0.55±0.24[d]
50	190	33.53±0.51[e]	28.33±1.57[de]	42,49±9.68[b]
100	190	28.01±0.01[g]	21.27±0.44[g]	64,53±1.21[a]
0	200	40±0.00[a]	40±0.00[a]	0±0.00[d]
0.1	200	39.54±0.01[a]	28.26±0.25[de]	0.06±0.01[d]
0.5	200	37.32±0.57[bcd]	32.74±0.53[bc]	0.28±0.01[d]
0.9	200	36.03±1.11[d]	29.78±1.82[bcd]	0.30±0.16[d]
2.0	200	36.02±0.80[d]	31.89±1.91[bcd]	0.41±0.38[d]
50	200	31.22±2.19[f]	20.58±4[g]	28.71±7.72[c]
100	200	28.24±0.45[g]	24.03±3.06[fg]	61.73±5.54[a]
0	210	40±0.00[a]	40±0.00[a]	0±0.00[d]
0.1	210	39.59±0.40[a]	28.84±4.38[cd]	0.04±0.03[d]
0.5	210	35.62±2.60[d]	32.90±1.44[bc]	0.23±0.07[d]
0.9	210	35.78±2.72[d]	28.51±3.16[cde]	0.17±0.07[d]
2.0	210	38.87±1.12[abc]	33.89±0.86[b]	0.40±0.27[d]
50	210	30.34±0.31[f]	24.35±4.18[efg]	22.69±3.65[c]
100	210	29.74±0.57[fg]	23.04±0.82[g]	49.74±1.30[b]

[1]: RRSU: Roundup ReadySoya Unu
[2]: Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark yoktur ($p<0,05$).

Real–time PCR miktar analiz sonuçlarında hamur ve bisküvi örnekleri incelendiğinde bitki spesifik Lektin geni, %0 RRSU eklenen örnekler hariç tümünde rahatlıkla tespit edilebilmiştir. % RRSU ekleme oranlarına göre sonuçlar karşılaştırıldığında % eklenen RRSU miktarına göre Lektin geninin tespit edildiği CP noktası değişmekle birlikte eklenen % RRSU miktarı ile bir orantı görülememektedir. Bisküvi örneklerinde pişirme sıcaklıkları karşılaştırıldığında ise 10°C' lik artışların Lektin geni CP tespit noktasına etkisinin olmadığı görülmektedir.

Hamur ve bisküvi örneklerinin RR Soya geni CP değerleri incelendiğinde örneklerde RR soya geni tespit noktalarının Lektin geni tespit noktalarına göre daha yüksek olduğu yani RR soya geni tespitinin Lektin geni tespitine oranla zorlaştığı görülmektedir. Hamur ve bisküvi örnekleri % RRSU ekleme miktarlarına göre karşılaştırıldığında hamur örneklerinde RR soya CP noktaları daha düşüktür yani bisküvi örneklerine oranla Real-time PCR'da daha erken tespit edilebilmiştir. Bisküvi örneklerinde pişirme sıcaklıkları karşılaştırıldığında ise 10°C'lik artışların RR soya geni CP tespit noktasına etkisinin olduğu görülmektedir.

Özgen-Arun vd. (2018), genetiği değiştirilmiş soya ununa fırınlama, otoklavlama ve dondurma işlemleri uygulayıp ELISA yöntemi ile genetik modifikasyon analizi yapmışlardır. Otoklavlama ve dondurma işlemlerinin uygulandığı örneklerin hepsinde genetik modifikasyonu tespit edebilmişler ancak fırınlama işlemi uygulanan örneklerde %5 oranından daha düşük genetik modifiye soya içeren örneklerde GDO tespit edilememiştir. %5 GDO içeren örneğin miktar analizi sonucu %0.26, %10 GDO içeren örneğin miktar analizi sonucu %0.70 oranında GDO tespit edilmiştir. %5 ve %10 oranında GDO içeren otoklavlama ve dondurma işlemi uygulanan örneklerin miktar analiz sonuçlarında ise %2.5 oranında fazla GDO tespit edilmiştir.

Hrncirova vd., (2008) genetik modifiye soya içeren ekmeklerin farklı sıcaklıklarda pişirilmesinin soya lektin ve EPSPS genlerinin tespitine etkisini incelemişlerdir. Yapmış oldukları çalışma da soya içeren ekmekler 100 ve 200°C'de ısıl işlem gördüğünde soya lektin ve EPSPS genleri çoğaltılabilmiş ancak pişirme derecesi 220°C'ye çıkarıldığında genler çoğaltılamamıştır.

Çalışmamızdaki bisküvi örneklerinin GDO analiz sonuçları incelendiğinde aynı düzeyde GDO içeren bisküvilerin 190, 200 ve 210°C'de pişirilmiş örneklerinin sonuçları karşılaştırıldığında % düzeyinde RRSU eklenen örnek hariç tüm örneklerde GDO tepit edilebilmiştir. Örneklerin pişirme dereceleri karşılaştırıldığında ise pişirme derecesi arttıkça örnekte tespit edilen % GDO oranının düştüğü görülmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda genetiği değiştirilmiş materyal analizleri ile birlikte fiziksel analizler de yapılmş olup bisküvi yapımında soya unu kullanımının bisküvilerin fiziksel özelliklerine etkisi incelenmiştir. Bu açıdan çalışmamız diğer genetik materyal tarama çalışmalarına göre özgündür.

Aşağıda, bu çalışma kapsamında yapılan işlemlere ilişkin sonuçlar ve öneriler maddeler halinde özetlenmiştir,

1)Toplamda 63 örnekte çap, yükseklik, yayılma oranı, pişirme kaybı, renk, DNA izolasyonu, bitki geni, lektin geni, 35S promotör bölge ve Roundup Ready Relatif Miktar analizleri yapılmıştır.

2) Bisküvilerin çap analizleri incelendiğinde bisküvi hamuruna %2 oranına kadar RRSU ekleme işleminin çap analizine etkisi olmadığı, ancak daha yüksek oranda RRSU eklemenin çap analizlerinde azalmaya sebep olduğu görülmüştür. Bisküvi hamuruna RRSU ekleme oranının %50 ve üzerinde olmasının çap analizindeki azalmaya doğrusal bir etkisi olmadığı bu orandan sonra çap analizlerindeki azalmanın durakladığı gözlenmiştir.

3)Bisküvilerin yükseklik analizleri incelendiğinde bisküvi hamuruna RRSU eklenmesin herhangi bir doğrusal artış ya da azalışa sebep olmadığı gözlenmiştir.

4)Bisküviler yayılma analizleri incelendiğinde bisküvi hamuruna %2 oranına kadar RRSU eklenmesinin yayılma oranına etkisi olmadığı bu oranlarda pişirilen bisküvilerin yayılma oranına pişirme sıcaklığının etkisi olduğu görülmüştür. Bisküvilerin pişirildiği her üç sıcaklığın sonuçları incelendiğinde pişirme derecesi arttıkça yayılma oranının azaldığı tespit edilmiştir.

5)Bisküvilerin pişirme kaybı sonuçları incelendiğinde pişirme derecesi arttıkça pişirme kaybının arttığı ancak bisküvi hamuruna eklenen RRSU miktarının pişirme kaybına orantısal bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

6)Bisküvi örneklerinin renk ölçüm analizleri sonucunda L* değerleri incelendiğinde pişirme derecesi arttıkça L* değerinin düştüğü bu düşmenin %50 ve %100 RRSU eklenen örneklerde daha da arttığı görülmüştür. Bu sonuçlarda bisküvilerdeki RRSU miktarı arttıkça soyanın kendine has kahverengi yapısının da etkisi olduğu gözlenmiştir.

7)Bisküvi örneklerinin renk ölçüm analizleri sonucunda a* değerleri incelendiğinde ise pişirme derecesinin artması ile örnekteki a* değerinin yükseldiği tespit edilmiştir.

8)Bisküvi örneklerinin renk ölçüm analizleri sonucunda b* değerleri incelendiğinde bisküvi hamurunda % RRSU miktarı ve pişirme derecesi arttıkça sarılık değerinin belirgin şekilde düştüğü görülmüştür.

9) Hamur ve bisküvi örneklerinde yapılan DNA izolasyon ve miktar analizlerinde 2 farklı ticari kit kullanılmış olup bu kitler arasında kalite ve miktar bakımından farklılıklar olduğu görülmüştür. DNA izolasyon ve miktar analizlerinde kullanılacak olan ticari kitlerin çalışılacak olan bitkiye ve ürüne yani ısıl işlem uygulanmış ya da uygulanmamış olmasına bağlı olarak değişkenlik gösterdiği bu sebeple her izolasyon kitinin bütün örneklerde verimli çalışmayacağı ve doğru sonuçlar vermeyeceği anlaşılmıştır.

10) Hamur ve bisküvi örneklerinde yapılan 35S promotör bölge taramaları sonuçları incelendiğinde CP değerinin hamura eklenen % RRSU miktarı arttıkça düştüğü yani genetiği değiştirilmiş materyal miktarının tespit edilme oranının arttığı görülmüştür. Pişirme sıcaklığının artışının %2 düzeyine kadar yapılan eklemelerde CP değerini artırdığı, dolayısı ile pişirme derecesi arttıkça genetik materyalin tespitinin zorlaştığı görülmüştür.

11) Hamur ve bisküvilerde yapılan relatif miktar analizlerinin sonucunda hamura %2 düzeyine kadar yapılan RRSU eklemelerinin 190, 200 ve 210°C'de pişirme yapılmasının etkisi olmadığı % GDO oranını istatistiksel olarak değiştirmediği tespit edilmiştir. Bisküvi hamuruna %50 ve %100 düzeyinde RRSU ilave edilen örneklerde ise 190, 200 ve 210°C'de pişirilen örneklerin sonuçları karşılaştırıldığında ise pişirme derecesinin tespit edilen % GDO oranını azalttığı, pişirme derecesinin her 10°C'lik artışının önemli ölçüde tespit edilen % GDO oranını değiştirdiği görülmüştür.

12) Pişirme gibi işleme yöntemlerinin DNA miktar ve kalitesini oldukça düşürdüğü dolayısı ile hammadde de bulunun % GDO oranının istatistiki açıdan önemli ölçüde etkilendiği kanıtlanmıştır. Mevcut GDO tespit yöntemlerinden özellikle çok işlenmiş ürünlerde sağlıklı sonuç alınamayacağı, sadece hammadde de yapılacak GDO miktar analizlerinden doğru ve güvenilir sonuç elde edileceği düşünülmektedir. Bu durum GDO miktar analizleri için özellikle işlenmiş ve çok işlenmiş ürünlerde yeni yöntemlere veya bakış açılarına ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir.

KAYNAKLAR

AACC, 2000. *International Approved Methods of Analysis*, Eleventh Edition. AACC International, St. Paul, MN, U.S.A.

Ahmed, F.E., 2002. Detection of GMO in foods. *Trends in Biotechnology,* 5, 215-223.

Aleem Zaker, M.D., Genitha, T.R., Hashmi, S.I., 2012. Effects of defatted soy flour incorporation on physical, sensorial and nutritional properties of biscuits. *Journal of Food Processing & Technology*, 4, 149-152.

Anonim, 2002a. Safety Assessment of Roundup-ready Soybean Event 40-3-2. https://. semanticscholar.org / 9510 / 641374b5563ba2719fe257450eea1529c732.pdf (Erişim Tarihi: 13.05.2019).

Anonim, 2002b. Genetiği değiştirilmiş organizmalar ve gıda güvenliği. *Tarım Bakanlığı Yayınları*, 16.

Anonim, 2005. Genetically Modified Organisms. http://www. learner.org /channel/ courses/ biology/ textbook/gmo/gmo_1.html (Erişim Tarihi: 13.05.2019).

Anonim, 2007. Information on GM Approved Products. www.agbios.com (Erişim Tarihi: 13.05.2019).

Arda, M., Yardımcı, H., 2005. Hayvancılıkta modern biyoteknoloji uygulamaları. *Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Yayınları*, 1-28.

Arda, M., 1995. Biyoteknoloji. *Kükem Derneği Bilimsel Yayınları*, 3.

Arda, M., 2007. Klonlamada Kullanılan Vektörler. http://www. mikrobiyoloji.org/ TR/ Genel/ BelgeGoster.aspx (Erişim Tarihi: 13.05.2019).

Aydın, G. 2004. Detection of Genetically Modified Maize via Polymerase Chain Reaction, Yüksek Lisans Tezi, Ortadoğu Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye.

Barampuram, S., Zhang, Z.J., 2011. Recent advances in plant transformation. *Plant Chromosome Engineering: Methods and Protocols*, 1-35.

Baran-Ekinci, M., 2008. İşlenmiş ve İşlenmemiş Bazı Mısır Ürünlerinde Genetik Modifikasyonun Tespiti, Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye.

Bauer, T., Hammes, W.P., Haase, N.U., Hertel, C., 2005. Effect of food compenents ana processing parameters on dna degradation in food. *Environmental Biosafety Research*, 3, 215-223.

Bawa, A.S., Anilakumar, K.R., 2013. Modified foods. *Journal of Food Science and Technology*, 50, 1035-1046.

Bayraç, A.T., Kalemtaş, G., Baloğlu, M.C, Kavas, M., 2014. *Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar*, 3.Basım. Odtü Yayıncılık, Ankara, 96.

Bendich, A.J., 1987. Why do chloroplasts and mitochondria contain so many copies of their genome. *BioEssays*, 6, 279–282.

Bildirici Z., 2008. Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar ve Avrupa Birliği Uygulamaları. http:// blog. bluzz.net / wp-content/uploads /2008/02 / avrupa - birligi - ve - gdo.pdf (Erişim Tarihi: 13.05.2019).

Biyogüvenlik Kanunu, 2010. *Türkiye Cumhuriyeti Biyogüvenlik Kanunu*. Kanun numarası 5977, Resmi Gazete, 27533/Tarih: 26.03.2010, Ankara.

Brookers, G., 2012. Economic Impacts of the Biosafety Law and Implementing Regulations in Turkey on the Turkish Importing and User Sectors. www. pgeconomics. co.uk/ pdf/Turkey.pdf (Erişim Tarihi: 13.05.2019).

Broothaerts, W., Mitchell, H.J., Weir, B., Kaines, S., Smith, L.M., Yang, W., Mayer, J.E., Roa-Rodríguez, C., Jefferson, R.A., 2005. Gene transfer to plants by diverse species of bacteria. *Nature*, 433 (7026), 629–633.

Celen, E., 2014. Türkiye'deki Biyogüvenlik Yasasının Etkilerinin Değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın, Türkiye.

Çakmak, A.I., 2010. Türkiye'de Satışa Sunulan Bazı Gıda Ürünlerinde Genetik Modifiye Mısır Bileşelerinin Aranması, Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.

Çelik, V., Turgut-Balık D., 2007. Genetiği değiştirilmiş organizmalar. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 23 (1-2), 13-23.

Çeltek, E.G., 2002. Genetik olarak modifiye edilmiş organizmalar. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 12, 11-14.

Çiçekçi, O., 2008. İlköğretim Okullarında Görevli Öğretmenlerin Transgenik Ürünler Konusundaki Bilgilerinin ve Görüşlerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi Eğitim Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye.

EFSA, 2004. Opinion of the scientific panel on genetically modified organisms on the use of antibiotic resistance marker genes as marker genes in genetically modified plants (Question No EFSA-Q-2003-109). *The EFSA Journal*, 48, 1-18.

Erbaş, H., 2008. Türkiye'de biyoteknoloji ve toplumsal kesimler. *Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Yayınları*, 4.

Erol, İ., 2007. *Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi*. Pozitif Matbaacılık, Ankara, 331-341.

Eser, V., Kılınçarslan, H., 2005. GDO'lar ile ilgili sorular ve cevaplar. *Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Yayınları*, 1-38.

EUR-Lex, 2019. European Union Law. https: // eur- lex.europa.eu/ homepage.html (Erişim Tarihi: 13.05.2019).

Fagan, J.B., 2005. Genetically Engineered Food - a Serious Health Risk. http:// www. netlink.de/gen/fagan.html (Erişim Tarihi: 13.05.2019).

Farid E.A., 2002. Detection of genetically modified organisms in foods. *Trends in Biotechnology*, 20 (5), 215-223.

Feriotto, G., Borgatti, M., Mischiati, C., Bianchi, N., Gambari, R., 2002. Biosensor technology and surface plasmon resonance for Real-time detection of genetically modified Roundup-ready Soybean gene sequences. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 20, 955–962.

Franz, J.E., Mao, M.K., Sikorski, J.A., 1997. Glyphosate: a unique global herbicide. *American Chemical Society*, 653.

Firidin, Ş., 2010. Rekombinant DNA teknolojisi. *Yunus Araştırma Bülteni*, 2, 16-18.

Gürsu, Ö., Ercan, R., Denli, E. 1997. Soya unu katkısının bisküvi kalitesine ve raf ömrüne etkisi. *Gıda*, 22 (2), 95-103.

Göneş, A.G., 2012. Türkiye'de Piyasaya Sürülen Soya Tohumlarında GDO (Genetiği Değiştirilmiş Organizma) Taraması ve GDO Saptanan Tohumlara Uygulanan Gıda Proseslerinin Kantitatif Analize Etkisi, Yüksek Lisans Tezi. Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.

Gözükırmızı, N., 2002. Biyogüvenlik sistemlerinin oluşmasında Türkiye'deki durum. Bitki Biyogüvenlik Araştırmaları Uygulamalı Eğitim Programı 3.Tübitak Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Araştırma Enstitüsü, 85-89.

Gözükırmızı, N., İpekçi, Z., Altınkut, A., Oğraş, T., 2008. Genetik Olarak Değiştirilmiş Bitki ve Bitki Kökenli Gıdaların Tanımlanmasında Kullanılan Yöntemler. www.istanbul.edu.tr/fen/mbg/notlar/1209107706.ppt (Erişim Tarihi: 13.05.2019).

Güngören, A.V., 2012. Genetiği Değiştirilmiş Tarım Ürünlerinin Türkiye Açısından Değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye.

Hagemann, R., 2004. The sexual inheritance of plant organelles. *Molecular Biology and Biotechnology of Plant Organelles*, 93–113.

Heller, K.J., 2006. *Genetically Engineered Food: Methods and Detection*, 2. Revised and Enlarged Edition. Wiley-Blackwell, New Jersey, 322.

Herrera-Estrella, L., De Block, M., Messens, E., Hernalsteens, J.P., Van Montagu, M., Schell, J., 1983. Chimeric genes as dominant selectable markers in plant cells. *The EMBO Journal*, 2 (6), 987-995.

Holst-Jensen, A., 2009. Testing for genetically modified organisms (GMOs): past, present and future perspectives. *Biotechnology Advances*, 27 (6), 1071-1082.

Hrncirova, Z., Bergerova, E., Siekel, P., 2008. Effects of technological treatment on DNA degredation in selected food matrices of plant origin. *Journal of Food and Nutrition Reserch*, 47 (1), 23-28.

ISAAA, 2017. Global status of commercialized biotech/gm crops in 2017: Biotech crop adoption surges as economic benefits accumulate in 22 years. . *The International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications (ISAAA)*, New York.

Jones-Villeneuve, E., Huang, B., Prudhome, I., Bird, S., Kemble, R., 1995. Assessment of microinjection for introducing DNA into uninuclear microspores of rape seed. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 40 (1), 97–100.

Karamollaoğlu, İ., 2007. Development of Qcm Based DNA Biosensors for Detection of Genetically Modified Organisms, Doktora Tezi. Ortadoğu Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye.

Kenward, K.D., Altschuler, M., Hildebrand, D., Davies P.L.,1993. Accumulation of type fish antifreeze protein in transgenic tobacco is cold-specific. *Plant Molecular Biology*, 23 (2), 377-385.

Kıran, F., Osmanağaoğlu, Ö., 2011. Gıdalarda genetik yapısı değiştirilmiş organizmaların (GDO) belirlenmesi. *Gıda,* 36 (5), 295-302.

Kıyak, S., 2004. Genetik olarak değiştirilmiş gıdalar, Cartagena Biyogüvenlik Protokolü ve Türkiye'deki durum. *Çevreye Genç Bakış*, 5, 1-20.

Kikkert, J.R., 1993. The Biolistic PDS-1000/he device. *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 33, 221- 226.

Lipp, M., Shilto, R., Giroux, R., Spigelhalter, F., Charlton, S., Pinero, D., Song, P., 2005. Polymerase chain reaction technology as analytical tool in agricultural biotechnology. *Journal of AOAC International*, 88 (1), 136-155.

Liu, Y., Yang, H., Sakanishi, A., 2006. Ultrasound: mechanical gene transfer into plant cells by sonoporation. *Biotechnology Advances*, 24 (1), 1-16.

Maclean, N., 2003. Genetically modified fish and their effects on food quality and human health and nutrition. *Trends in Food Science & Technology*, 14, 242-252.

Meyers, B., Zaltsman, A., Lacroix, B., Kozlovsky, S.V., Krichevsky, A., 2010. Nuclear and plastid genetic engineering of plants: comparison of opportunities and challenges. *Biotechnology Advanges*, 28 (6), 747–56.

Michielse, C.B., Hooykaas, P.J., Van den Hondel, C.A., Ram, A.F., 2005. *Agrobacterium*-mediated transformation as a tool for funetional genomics in fungi. *Current Genetics*, 48 (1), 1-17.

Miller, D.L., Pislaru, S.V., Greenleaf, J.F., 2002. Sonoporation: mechanical DNA delivery by ultrasonic cavitation. *Somatic Cell and Molecular Genetics*, 27 (1-6), 115-134.

Miraglia, M., Berdal K.G., Brera C., Corbisier P., Holst-Jensen A., Kok E.J., Marvin H.J.P., Schimmel H., Rentsch J., Van Rie J.P.P.F., Zagon J., 2004. Detection and

traceability of genetically modified organisms in the food production chain. *Food and Chemical Toxicology*, 42, 1157–1180.

National Human Genome Research Institute, 2015. Genetic Timeline. https://www. genome.gov/pages/education/ genetictimeline.pdf (Erişim Tarihi: 13.05.2019).

Nazlıcan, A.D., 2019. Soya Yetiştiriciliği. https:// arastirma. tarimorman. gov. tr/ cukurovataem / Belgeler/ Yeti% C5%9 Ftiricilik/soya-yetistiriciligi_1.pdf (Erişim Tarihi: 13.05.2019)

Okusu, H., 2003. Socio-Economic and Ethical Aspects of GMOs. Genetically Modified Organisms (GMO) Impact on Environment and Health Risk Assessment Training Workshop. NamPower Convention Centre, Windhoek, 17-19.

Özcan, S., Özgen M., 1996. Bitki genetik mühendisliği. *Kükem Dergisi*, 1, 69-95.

Özcenalp, E.G., 2006. Bilim ve Teknoloji Politikaları Bağlamında Türkiye'de Biyogüvenlik Yasa Tasarısının İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi Biyoteknolojii Enstitüsü, Ankara, Türkiye.

Özçelik, T., 2015. DNA Mikroarray/ DNA Mikrodizilimi: Hematolojide Kullanım Alanları. http://www. thd.org.tr /thdData/ userfiles/file/dna.pdf (Erişim Tarihi: 13.05.2019).

Özgen-Arun, Ö., Yılmaz-Eker, F., Muratoğlu, K., 2018. The effect of processing factors on detection of genetically modified soy in flour by ELISA assay. *Journal of Istanbul Veterinary Sciences*, 2 (2), 57-60.

Özmert-Ergin, S., Yaman, H., 2013. Genetiği değiştirilmiş gıdalar ve insan sağlığı üzerine etkileri. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2(2), 261-274.

Pan, T.M., 2002. Current status and detection of genetically modified organism. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10 (4), 229-241.

Patnaik, D., Khurana, P., 2001. Wheat biotechnology. *Electronic Journal of Biotechnology*, 4 (2), 74–102.

Pauli, U., Liniger, M., Zimmerman, A., Schrott, M., 2000. Extraction and amplification of DNA from 55 foodstuffs. *Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung Hygiene*, 91, 491-501.

Primrose, S.B., Twyman R.M., 2006. *Principles of Gene Manipulation and Genomics*, Seventh Edition. Blackwell Publishing, New Jersey, 1190.

Rakoczy-Trojanowska M., 2002. Alternative methods of plant transformation. *Cellular and Molecular Biology Letters*, 7 (3), 849–58.

Rao, A. Q., Bakhsh, A., Kiani, S., Shahzad, K., Shahid, A. A., Husnain, T., Riazuddin, S., 2009. The myth of plant transformation. *Biotechnology Advances*, 27 (6), 753-763.

Rivera, A.L., Gomez-Lim, M., Fernández, F., Loske, A.M., 2012. Physical methods for genetic plant transformation. *Physics of Life Reviews*, 9 (3), 308-345.

Rivera, A.L., Magaña-Ortíz, D., Gomez-Lim, M., Fernández, F., Loske, A.M., 2014. Physical methods for genetic transformation of fungi and yeast. *Physics of Life Reviews*, 11 (2), 184-203.

Ruse, M., Castle, D., 2002. *Genetically Modified Foods*. Prometheus Books, New York, 350.

Southgate, E.M., Davey, M.R., Power, J.B., Marchant, R., 1995. Factors affecting the genetic engineering of plants by microprojectile bombardment. *Biotechnology Advances*, 13 (4), 631–651.

Somma, M., 2003. Quantitative PCR for the detection of GMOs. The Analysis of Food Samples for the Presence of Genetically Modified Organisms, 3-7 February, Ispra, Italy.

Spiegelhalter, F., Lauter, F.R., Russel, J.M., 2001. Detection of genetically modified food products in commercial laboratory. *Journal of Food Science*, 66 (5), 634–640.

Spök, A., 2006. Moleculer farming on the rice-gmo regulators still walking a tightrope. *Trends in Biotechnology*, 25 (2), 74-82.

Şen, S., Altınkaynak, S., 2014. Genetiği değiştirilmiş gıdalar ve potansiyel sağlık riskleri. *Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 18 (1), 31-38.

Talu, N., 2005. Biyogüvenlik Cartagena Protokolü ve Türkiye'de Durum. www. cevre. org.tr (Erişim Tarihi: 13.05.2019).

Tozzini, A., Martinez, M.C., Lucca, M.F., Rovere, C. Ana Distefano, A.J., 2000. Semiquantative detection of genetically modified grain based on CaMV 35S promoter amplification. *Electronic Journal of Biotechnology*, 3, 149-153.

Türkoğlu, S., 2007. Screening of Tomato Seeds for Genetic Modification an Identification of Genetically Modified Ripening Delayed Tomato Seeds, Yüksek Lisans Tezi. Ortadoğu Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye.

Türkyılmaz, S., Esendal, O.M., 2002. Polimeraz zincir reaksiyonu ve mikrobiyolojide kullanım alanları. *Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 8 (1), 71-76.

Uzogara, S.G., 2000. The impact of genetic modification of human foods in the 21. century. *Biotechnology Advances*, 18, 179-206.

Van den Bergh, J.C.J.M., Holley, J.M., 2002. An environmental-economic assessment of genetic modification of agricultural crops. *Futures*, 34, 807-822.

Weber, G., Monajembashi, S., Wolfrum, J., Greulich, K.O., 1990. Genetic changes induced in higher plant cells by a laser microbeam. *Physiologia Plantarum*, 79 (1), 190-193.

Weirich, P., 2007. *Labeling Genetically Modified Food*. Oxford University Press, New York, 272.

Yanaz, S., 2008. Genetik Olarak Değiştirilmiş Organizmalar (GDO) Konusu ve Cartegena Biyogüvenlik Protokolü. http://www. dtm.gov.tr/ dtmadmin /upload/ EAD/Tanitim Koordinasyon Db/geneti k.doc (Erişim Tarihi: 13.05.2019).

Yılmaz, M. M., 2012. Türkiye'deki İşlenmiş Soya Ürünlerinde Kalitatif ve Kantitatif GDO Tanısı ve Transgen Analizi, Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

Zupan, J., Zambryski, P., Citovsky, V., 1997. The *Agrobacterium* DNA transfer complex. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 16 (3), 279-295.

ÖZGEÇMİŞ



Adı Soyadı : Özge HÜYÜK

Doğum Yeri ve Yılı : Burdur, 1992

Eğitim Durumu

- Lise :Burdur Anadolu Lisesi / 2010
- Lisans :Pamukkale Üniversitesi, Gıda Mühendisliği / 2014
- Yüksek Lisans :Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Gıda Mühendisliği / 2019

Mesleki Tecrübeler

- Üretim Mühendisi, Hastel Gıda San. Tic. Ltd. Şti., Organize Sanayi Bölgesi Milli Egemenlik Caddesi 40 Sk. No:17-48, Burdur (30.06.2014-21.09.2019)
- Gıda Mühendisi, Berdem Gıda Yem. Tem. İnş. Nak. Tur. San. Tic. Ltd. Şti., Burç, Kışla Cd. No:5, Burdur (01.10.2015-30.06.2016)
- Gıda Mühendisi, Yemekçim Gıda A.Ş., Burç, Kışla Cd. No:5, Burdur (22.07.2016-20.08.2018)
- Kalite Güvece Sorumlusu, GRM Gıda Ltd. Şti., Tire Organize Sanayi Bölgesi, İbn-i Melek Mah., Tosbi Yol 7, No:15/1, Tire/İzmir (21.08.2018- halen)

Yayınlar

- Hüyük, Ö., Baran-Ekinci., M. (2018). Edible Vaccines Produced by Modern Biotechnological Methods. International Conference on Agriculture Forest, Food, Veterinary Science and Technologies, ICAFOF 2. 319. 2-5 April. Çeşme-İzmir. Turkey.

- Hüyük, Ö., Baran-Ekinci., M. (2017). İmmobilized enzyme. Agriculture Forest, Food, Veterinary Science and Technologies, ICAFOF. 15-17 May, 2017. Nevşehir. Turkey.